

Departement für Nutztiere  
Abteilung Ambulanz und Bestandesmedizin  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. U. Braun

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von  
Prof. Michael Hässig und Dr. Christoph Lippuner

## **Klinische Epidemiologie der Kälbercryptosporidiose**

### **Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

**Sarah Emilie Weber**

Tierärztin  
von Zürich, ZH

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Michael Hässig  
Prof. Dr. med. vet. Peter Deplazes

**2015**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Zusammenfassung/Summary .....</b>	<b>4</b>
1.1 Zusammenfassung .....	4
1.2 Summary .....	5
<b>2. Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>6</b>
<b>3. Einleitung .....</b>	<b>7</b>
<b>4. Material und Methoden .....</b>	<b>10</b>
4.1 Betriebe und Tiere .....	10
4.2 Kolostrum und Milch.....	10
4.2.1 Herstellung von Serum aus dem Kolostrum.....	10
4.2.2 Isolierung kolostraler Leukozyten mittels Ficoll-Gradienten.....	11
4.2.3 Anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA Kolostrum .....	11
4.2.4 Radiale Immundiffusion (RID) Kolostrum .....	12
4.2.5 Milchprobe .....	12
4.3 Blut .....	12
4.3.1 Serumherstellung.....	13
4.3.2 Leukozytenzählung und Differentialblutbild .....	13
4.3.3 Isolierung von Leukozyten aus EDTA-Blut.....	13
4.3.4 Anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA Blut.....	13
4.3.5 Radiale Immundiffusion (RID) Blut .....	13
4.4 Kot .....	13
4.4.1 Parasitologische Kotprobenuntersuchungen .....	13
4.4.1.1 Modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung zum Nachweis von Cryptosporidien-Oozysten.....	14
4.4.1.2 SAFC-Methode zum Nachweis von Protozoen-Oozysten .....	14
4.4.1.3 Kombiniertes Sedimentations/Flotations-Verfahren zum Nachweis von Helminthen-Eiern und Protozoen-Oozysten .....	14
4.4.2 Bio-X Digestive ELISA Kit (BIO K 348).....	15
4.5 Statistische Auswertung .....	15
<b>5. Resultate .....</b>	<b>16</b>
5.1 Deskriptive Statistik .....	16
5.1.1 Betriebe und Tiere .....	16
5.1.1.1 Betriebe .....	16
5.1.1.2 Kühe .....	16
5.1.1.3 Kälber .....	16

5.1.2 Blutuntersuchungen .....	16
5.1.2.1 Kühe .....	16
5.1.2.2 Kälber .....	17
5.1.3 Kolostrumuntersuchung .....	19
5.1.4 Milchuntersuchung .....	20
5.1.5 Enteropathogene .....	20
5.1.5.1 Kühe .....	20
5.1.5.2 Kälber .....	21
5.1.6 Cryptosporidien .....	24
5.1.7 Durchfall .....	25
5.1.8 Cryptosporidien und andere Enteropathogene und Durchfall .....	26
5.2 Statistische Modelle .....	29
5.2.1 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich Durchfall zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten .....	29
5.2.2 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich Ergebnis der modifizierten Ziehl-Neelsen-Färbung zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten .....	32
5.2.3 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich Ergebnis des Cryptosporidien-Koproantigen-ELISAs für <i>C. parvum</i> zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten .....	34
5.2.4 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich Ergebnis des Koproantigen-ELISAs für <i>C. parvum</i> bei den Kühen .....	36
5.2.5 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich Cryptosporidien-Ausscheidung zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten .....	37
5.2.6 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich Durchfall mit Cryptosporidien-Ausscheidung zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten .....	39
5.2.7 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich asymptomatischer Cryptosporidien-Ausscheidung zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten .....	41
<b>6. Diskussion .....</b>	<b>44</b>
6.1 Deskriptive Statistik .....	44
6.1.1 Kühe allgemein .....	44
6.1.2 Kälber allgemein .....	45
6.2 Statistische Modelle .....	47
6.2.1 Modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung und Koproantigen-ELISA für Cryptosporidien .....	47
6.2.2 Halofuginon .....	47
6.2.3 Stalltyp und IgG-Gehalt im Kolostrum .....	47
<b>7. Referenzen .....</b>	<b>50</b>

# **1. Zusammenfassung/Summary**

## **1.1 Zusammenfassung**

Cryptosporidien stellen weltweit ein grosses Problem in der Kälberhaltung dar. Aus früheren Studien geht hervor, dass gewisse Kälber Cryptosporidien ausscheiden und an Durchfall leiden, andere wiederum Cryptosporidien ausscheiden aber nicht erkranken. In der Schweiz wurde noch keine Untersuchung von Risikofaktoren im Zusammenhang mit Cryptosporidien-Infektionen bei Kälbern durchgeführt. Ziel dieser Studie war es deshalb, einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Cryptosporidien und immunologischen Faktoren, sowie Betriebsfaktoren oder die Verwendung von Therapeutika herzustellen.

Von Januar bis Juni 2010 wurden im Kanton Zürich 63 Mutter-Kalb-Paare aus 20 verschiedenen Betrieben untersucht. Binnen eineinhalb Monaten erfolgten zu ausgewählten Zeitpunkten drei Besuche. Dabei wurden Daten erhoben, wie auch Blut-, Kot-, Kolostrum-, respektive Milchproben gewonnen und untersucht.

Die Prävalenz von Cryptosporidien-Oozysten war zwischen dem 7. und 20. Lebenstag der Kälber am höchsten und lag bei 54.0%, wobei 47.1% dieser Kälber an Durchfall litten. Offenställe steigerten das Risiko für Durchfall, bzw. für Cryptosporidien-Ausscheidung zwischen dem 1. und 4., bzw. 7. und 20. Lebenstag. Halofuginon zeigte in dieser Studie keine Wirkung. Eine ausreichende Übertragung von IgG mit dem Kolostrum und die humorale Immunität des Kalbes konnten keine Infektion mit Cryptosporidien verhindern, linderten aber die Durchfallsymptomatik.

## 1.2 Summary

Cryptosporidiosis is a widespread disease in calves. Former studies showed that shedding of *Cryptosporidium* in calves is associated with diarrhoea, but can be asymptomatic as well. No investigation has been conducted to identify risk factors associated with Cryptosporidiosis in calves in Switzerland so far. Thus, the aim of this study was to determine whether there is an association between *Cryptosporidium* infections in calves and immunological factors, e.g. components of the colostrum, as well as farm-related factors or usage of Halofuginone.

From January to June 2010, 63 cow-calf-pairs from 20 different farms near Zürich, Switzerland have been investigated. Each cow-calf-pair was visited three times within the first one and a half month of life to collect data on the farm and animals, as well as blood, faecal, colostrum and milk samples.

The highest prevalence of *Cryptosporidium* oocysts was 54.0% and found 7 to 20 days *post natum*, whereas 47.1% were suffering from diarrhoea. Calves housed in open stables were significantly more likely to suffer from diarrhoea, resp. to shed *Cryptosporidium* oocysts during the first 4 days, resp. 7 to 20 days *post natum*. Halofuginone showed no effect in this study. Neither an adequate passive transfer of colostrum IgG from the dam to the calf nor the humoral immune response of the calf itself could prevent an infection with *Cryptosporidium* oocysts, although a reduction in the severity of diarrhoea could be observed.

## 2. Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	Analysis of Variance
<i>ap</i>	<i>ante partum</i>
AZ	Allgemeinzustand
BCS	Body Condition Score
BT	Bluetongue
<i>C.</i>	<i>Cryptosporidium</i>
CA	Cryptosporidien-Ausscheidung
CI	Confidence Interval
CMT	California Mastitis Test, Schalmtest
DF	Durchfall
DMSO	Desoxymethylsulfoxid
E	3.25E-3 entspricht 0.00325, 3.25E3 entspricht 3'250
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ELISA	Enzyme-linked-immunosorbent-assay
FCS	fetal calf serum
Fütt	Fütterung
g	Gramm
IgG	Immunglobulin G
Kb	Kalb
l	Liter
<i>ln</i>	<i>logarithmus naturalis</i>
min	Minuten
ML	Milchleistung
ml	Milliliter
obB	ohne besonderen Befund
OR	Odds Ratio
OT	Objektträger
PBS	Phosphate buffered saline
<i>pn</i>	<i>post natum</i>
<i>pp</i>	<i>post partum</i>
RID	Radiale Immundiffusion
SAF	sodium acetate-acetic acid-formalin
SD	Standard Deviation
ZN-Färbung	modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung

### 3. Einleitung

Cryptosporidien sind intrazelluläre, ca. 5µm grosse Magen-Darm-Protozoen (Fayer et al., 2008; Fayer et al., 2005; Lindsay et al., 2000). Sie gehören zur Klasse der Coccidea und zur Ordnung Cryptosporiidae (Eckert et al., 2008). Ihr Wirtsspektrum umfasst viele Säugetiere inklusive den Menschen, aber auch Fische, Reptilien und Vögel (rezensiert in: Angus, 1983; rezensiert in: Tzipori, 1983; rezensiert in: Xiao et al., 2004). Es gibt verschiedene Spezies und Genotypen, welche sich unter anderem in ihrer Wirtsspezifität unterscheiden. *Cryptosporidium parvum* hat zoonotisches Potential (Gait et al., 2008).

Cryptosporidien wurden bereits 1910 bei Mäusen beschrieben (Tyzzer, 1910). Erst 1971 wurde die bovine Cryptosporidiose das erste Mal beschrieben, als bei einem 8-monatigen Kuhkalb Cryptosporidien-Oozysten nachgewiesen werden konnten (Panciera, 1971). Nach heutigem Wissensstand kommen bei Rindern 4 Cryptosporidien-Spezies vor: *Cryptosporidium parvum* (Umbenennung in *C. pestis* vorgeschlagen (Slapeta, 2011)), *C. bovis*, *C. ryanae* und *C. andersoni* (Fayer et al., 2005; Lindsay et al., 2000; Santin et al., 2004). Die betroffene Altersgruppe, die Präpatenz- und Patenzzzeit sowie die durch die Infektion ausgelösten Symptome sind je nach Spezies unterschiedlich. *C. parvum* wird auf dem amerikanischen Kontinenten oft als die am häufigsten bei Kälbern auftretende Spezies genannt. In Europa jedoch konnte in Untersuchungen in Schweden. *C. bovis* als häufigste Spezies identifiziert werden (Meireles et al., 2011; Santin et al., 2004; Silverlas et al., 2010a; Silverlas et al., 2010b; Trotz-Williams et al., 2006).

Bovine Cryptosporidiose kommt weltweit vor. In Australien und Kanada wurden bei Kälbern Prävalenzen zwischen 40.6% und 58.5% festgestellt (Izzo et al., 2011; Trotz-Williams et al., 2005). In Europa wurden je nach Land Prävalenzen von 27.8% bis 71.9% bei unter einen Monat alten Kälbern gefunden (Bartels et al., 2010; Castro-Hermida et al., 2002; de la Fuente et al., 1999; Joachim et al., 2003; Maddox-Hyttel et al., 2006; Silverlas et al., 2009b). In der Schweiz wurden in einer Studie Kälber im Alter von bis zu 3 Wochen untersucht, wobei 43.0% der an Durchfall leidenden und 21.0% der gesunden Kälber Cryptosporidien ausgeschieden haben (Luginbühl et al., 2005). In einer anderen Untersuchung wurde bei der gleichen Altersgruppe eine Prävalenz von 55.0% nachgewiesen (Uhde et al., 2008).

In den Vereinigten Staaten wurden bei Kühen Prävalenzen zwischen 0.0% und 7.1% festgestellt (Atwill et al., 1998; Atwill et al., 2003; Fayer et al., 2007). Sehr unterschiedliche Ergebnisse lieferten Studien aus Europa. Je nach Land betrug die Prävalenz zwischen 3.1% und 71.8% (Castro-Hermida et al., 2007; Lorenzo Lorenzo et al., 1993; Maddox-Hyttel et al., 2006; Scott et al., 1995; Silverlas et al., 2009b).

Die Diskrepanz bezüglich der verschiedenen Prävalenzen beruht unter anderem auf Unterschieden in der untersuchten Population (Altersverteilung, Rasse, Haltungsform, Symptomatik) und in den verwendeten Nachweismethoden aufgrund unterschiedlicher Sensitivität und Spezifität des Testsystems.

Mischinfektionen mit Rotaviren sind am häufigsten, wobei je nach Studie und Land Cryptosporidien oder Rotaviren die höhere Prävalenz haben (de la Fuente et al., 1999; Izzo et al., 2011; Joachim et al., 2003; Luginbühl et al., 2005; Uhde et al., 2008).

Im Darm des Wirtes durchläuft der Parasit eine ungeschlechtliche sowie geschlechtliche Vermehrung. Daraus gehen entweder sporulierte Oozysten, welche mit dem Kot ausgeschieden werden, hervor oder solche, welche mit ihren Sporozoiten weitere Enterozyten infizieren können (endogene Autoinfektion) (Current und Reese, 1986). Die Übertragung erfolgt fäco-oral durch direkten Kontakt oder über Kontamination der Umgebung.

Vor allem bei Jungtieren und immunsupprimierten Menschen können Cryptosporidien sehr starken Durchfall verursachen. Ohne symptomatische Behandlung, vor allem mit Rehydratationslösungen, kann dies zu starker Dehydratation und zum Tod führen. Asymptomatische Ausscheidung des Parasiten kommt vor allem bei Kühen, aber auch bei Kälbern vor, was für die Übertragung eine Rolle spielen kann (Fayer et al., 2007; Fayer et al., 2006; Lefay et al., 2001; Scott et al., 1995; Silverlas et al., 2010a).

Durch den Durchfall und die Beeinträchtigung des Darmes kann es bei den Kälbern zu Wachstumsrückstand kommen, was nebst der Therapie zusätzliche Kosten, bzw. Gewinneinbussen

verursachen kann (Klein et al., 2008). Es ist jedoch umstritten ob und in welchem Masse Cryptosporidien alleine langfristig das Wachstum der Kälber beeinträchtigen (rezensiert in: de Graaf et al., 1999; Donovan et al., 1998; Lentze et al., 1999).

Bei Kälbern zwischen dem 1. und 3. Lebenstag beträgt die Präpatenzzeit nach experimenteller Infektion mit *C. parvum* 3-6 Tage. Die Ausscheidung von Cryptosporidien-Oozysten erreicht ihren Höchstwert zwischen dem 6. bis 7. Tag nach Infektion (Fayer et al., 1998). Cryptosporidien-Oozysten können bei natürlicher Infektion schon ab dem 3. Lebenstag im Kot nachgewiesen werden (Lopez et al., 1988). Die Prävalenz ist dabei in der zweiten Lebenswoche des Kalbes am höchsten (de la Fuente et al., 1999; Santin et al., 2008; Santin et al., 2004). Ein infiziertes Kalb kann zwischen 100 und  $2 \times 10^8$  Oozysten pro Gramm Kot ausscheiden (Silverlas et al., 2010a). Die ausgeschiedenen Oozysten sind bereits sporuliert und somit sofort infektiös (Current und Reese, 1986).

Die ausgeschiedenen Oozysten sind sehr tolerant gegenüber Umwelteinflüssen, wie z.B. Temperaturschwankungen, und können je nach Bedingungen mehrere Monate bis Jahre im Boden oder im Wasser überleben (Fayer und Nerad, 1996; Jenkins et al., 2002; Kato et al., 2004; Kato et al., 2002; Robertson et al., 1992). Ausserdem sind sie resistent gegenüber den meisten gängigen Desinfektionsmitteln (Campbell et al., 1982; Castro-Hermida et al., 2006; Korich et al., 1990; Weir et al., 2002). Als einziges gegen Cryptosporidien wirksames Desinfektionsmittel ist in der Schweiz Neopredisan 135-1<sup>®</sup> zugelassen. Um seine Wirksamkeit zu entfalten, muss es in einer 3%-igen Konzentration verwendet werden und mindestens während 30 Minuten bei Raumtemperatur einwirken können (Anonym, 2001).

Zur Prophylaxe der Cryptosporidiose ist in der Schweiz nur der Wirkstoff Halofuginon (Halocur<sup>®</sup> Veterinaria AG) zugelassen. Halofuginon wirkt im Darmlumen vor allem auf die Sporozoiten und Merozoiten, die freien Stadien des Parasiten (Anonym, 2003). Durch die Anwendung von Halofuginon in den ersten Lebenstagen des Kalbes wird die Ausscheidung von Oozysten reduziert und tritt zeitlich später in Erscheinung, die Infektion wird aber nicht unterbunden. Ausserdem kann das Auftreten von Durchfall reduziert werden (Jarvie et al., 2005; Joachim et al., 2003; Lefay et al., 2001; rezensiert in: Silverlas et al., 2009a).

Die Gabe von Kolostrum scheint bezüglich später ausgeschiedener Oozystenmenge und Schwere des Durchfalls keine direkte Rolle zu spielen (Tzipori et al., 1983). Der Immunglobulin-Gehalt im Blutserum der Kälber konnte zwar nicht mit der Ausscheidung von Cryptosporidien und dem Auftreten von Durchfall assoziiert werden, es gilt aber zu beachten, dass in der besagten Studie 90.5% der Kälber mit einem Immunglobulin-Gehalt von unter 8 g/l unterversorgt waren (Uhde et al., 2008).

Eine aktive Immunisierung der Kälber, bzw. eine passive Immunisierung mittels Mutterschutzvakzine ist zum jetzigen Zeitpunkt nicht möglich. Experimentell gelang es durch eine orale Immunisierung von Kälbern mit toten *C. parvum*-Oozysten die Ausscheidung und das Auftreten von Durchfall zu reduzieren, jedoch zeigte die Impfung in einem Feldversuch keine Wirkung (Harp und Goff, 1995; Harp et al., 1996). Dabei ist von grosser Bedeutung, dass die Infektion der Kälber mit Cryptosporidien oft unmittelbar nach der Geburt, bzw. in den ersten Lebenstagen stattfindet. Der Aufbau einer spezifischen Immunantwort hingegen dauert ca. 10 Tage. Aus diesem Grund wurden in der Vergangenheit neben Bemühungen zur Entwicklung einer aktiven Immunisierung auch Bestrebungen unternommen Mutterschutzvakzine zur passiven Immunisierung der Kälber zu entwickeln. Mit Hyperimmunkolostrum von Kühen, welche vor der Geburt mit Cryptosporidien-Antigenen geimpft wurden, konnte teilweise eine Reduktion des Schweregrads und/oder der Dauer des Durchfalls und der Ausscheidungsmenge und/oder -dauer erreicht werden (Fayer et al., 1989; Harp et al., 1989; Perryman et al., 1999). Unklar ist jedoch, ob die beobachteten Effekte tatsächlich auf die im Kolostrum enthaltenen spezifischen Immunglobuline gegen Cryptosporidien beruhen oder ob es aufgrund der Immunisierung der Kühe zu einer Steigerung von anderen Faktoren, wie Zellen oder Zytokine, im Kolostrum kommt.

Wie schon für andere intrazelluläre Enteropathogene gezeigt werden konnte, könnte ein passiver Schutz von der Kuh auf das Kalb mittels Lymphozyten im Kolostrum übertragen werden (Donovan et al., 2007; Riedel-Caspari, 1993). Mittlerweile ist bekannt, dass die zelluläre Abwehr des Kalbes eine bedeutende Rolle bei der Abwehr von Cryptosporidien spielt. Es konnte gezeigt werden, dass nach experimenteller Infektion die spezifische Immunantwort von Lymphozyten gegen Cryptosporidien schon sehr früh nach der Infektion nachzuweisen ist (Whitmire und Harp, 1991). Im Darm von Kälbern, welche experimentell mit Cryptosporidien infiziert wurden, konnte eine Erhöhung und



Aktivierung von intestinalen, intraepithelialen T-Lymphozyten sowie ein unterschiedliches Zytokinexpressionsmuster im Vergleich zur nicht-infizierten Kontrollgruppe festgestellt werden (Wyatt et al., 2002; Wyatt et al., 1997; Wyatt et al., 2001). Kürzlich wurde ein Lipid aus dem Kolostrum identifiziert, welches in vitro die Adhäsion von Sporozoiten an die Enterozyten hemmt, welches bei der Abwehr von Cryptosporidien eine Rolle spielen könnte (Johnson et al., 2004; Schmidt und Kuhlenschmidt, 2008).

Mangels spezifischer prophylaktischer Möglichkeiten, Medikamente und aufgrund der Resistenz des Parasiten gegenüber Umwelteinflüssen und Desinfektionsmitteln beruht die Bekämpfung zurzeit vor allem auf Massnahmen, welche die Optimierung der Haltung und der Hygiene auf dem Betrieb betreffen. Neben der ausreichenden Versorgung der Kälber mit Kolostrum, der Isolierung kranker Kälber, der Einhaltung der Tränkereihenfolge (i.e. kranke Kälber zuletzt) und der Reinigung der Kälberboxen vor dem Einstellen neuer Kälber, sind bezüglich Cryptosporidien weitere Faktoren zu beachten, welche ein Risiko für die Übertragung des Parasiten darstellen. Verschiedene Studien in der Vergangenheit konnten unterschiedlichste Risikofaktoren identifizieren. Die Ergebnisse weichen zum Teil stark auseinander, dies ist unter anderem durch Unterschiede bezüglich der Auswahl der Betriebe (Haltungsform, Rasse) und der Untersuchungsmethoden bedingt. An dieser Stelle wird selektiv auf einige Resultate eingegangen. Auf Ebene des Betriebs erhöhen unter anderem folgende Faktoren das Risiko einer Infektion des Kalbes mit Cryptosporidien: Laufställe, Zukauf von Kälbern, Stroheinstreu, Aufstallung von jungen Kälbern neben/mit älteren Kälbern und Hausfliegen. Eine grosse Anzahl Tiere auf dem Betrieb wird ebenfalls mit einem grösseren Risiko einer Infektion in Verbindung gebracht (Castro-Hermida et al., 2002; Graczyk et al., 1999; Graczyk et al., 2000; Gulliksen et al., 2009; Mohammed et al., 1999; Silverlas et al., 2009b). Die Dauer bis zur Trennung des Kalbes von der Kuh nach der Geburt wird sowohl als Risiko- wie auch als Schutzfaktor bezeichnet, wobei auch die Rolle der Kuh als Ansteckungsquelle diskutiert wird (Atwill et al., 1998; Duranti et al., 2009; Faubert und Litvinsky, 2000; Silverlas et al., 2009b). Zur Bedeutung der Jahreszeit bestehen widersprüchliche Resultate (Castro-Hermida et al., 2002; Mohammed et al., 1999; Wade et al., 2000). Ein wichtiger Faktor ist hingegen das Alter des Kalbes bei Exposition. Ältere Kälber scheiden geringere Mengen an Oozysten aus und die Symptomatik ist weniger stark ausgeprägt (Silverlas et al., 2009b). Nach einer Exposition bauen Kälber eine protektive Immunität auf (Harp et al., 1990).

Epidemiologische Studien befassten sich in der Vergangenheit entweder mit Prävalenz- und/oder Verlaufsuntersuchungen oder mit der Identifizierung von Betriebsfaktoren, welche Cryptosporidien-Infektionen beeinflussen können. Ziel dieser Querschnittstudie war es deshalb, einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Cryptosporidien und den immunologischen Faktoren der Kälber und Kühe, sowie den auf dem Betrieb herrschenden Bedingungen, herzustellen.

## 4. Material und Methoden

### 4.1 Betriebe und Tiere

Insgesamt wurden 63 Mutter-Kalb-Paare aus 20 verschiedenen Betrieben im Kanton Zürich untersucht. Es wurden zufällig Betriebe mit und ohne bekanntem Cryptosporidien-Durchfall-Problem in die Studie integriert, welche allesamt im Einzugsgebiet der Ambulanz des Tierspitals der Vetsuisse-Fakultät Zürich lagen (maximal 30 km Entfernung). Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich von Januar bis Juni 2010. Pro Betrieb wurden im Mittel 3.2 Kälber untersucht, das Minimum lag bei 1, das Maximum bei 6 (SD 1.5, Median 3.0). Eine Kuh hatte Zwillinge. Alle 63 Kühe und 64 Kälber wurden in die Studie miteinbezogen.

Beim 1. Besuch wurden 64 Kälber untersucht, beim 2. Besuch 63 und beim 3. Besuch 60. Ein Kalb starb zwischen dem 1. und 2. Besuch an Durchfall, 3 weitere Kälber wurden zwischen dem 2. und 3. Besuch verkauft und konnten daher nicht drei Mal untersucht werden.

Zum Zeitpunkt des 1. Besuchs waren die Kälber zwischen 1 und 4 Tagen alt (Mittelwert: 2.6, Median 3.0, Standardabweichung 0.8, Standardfehler: 0.1). Beim 2. Besuch waren sie zwischen 7 und 20 Tagen alt (Mittelwert: 11.8d, Median: 11.0d, Standardabweichung: 3.2d, Standardfehler: 0.4d). Beim 3. Besuch waren sie zwischen 26 und 49 Tagen alt (Mittelwert: 34.4, Median: 34.0, Standardabweichung: 4.3, Standardfehler: 0.6).

Die untersuchten Tiere gehörten den Rassen Braunvieh (n=19), Rotfleck (n=19), Simmentaler (n=11), Angus (n=5), Dexter (n=2), Limousin (n=2), Holstein Friesian (n=1) und Jersey (n=1) an. Vier Tiere waren Mastkreuzungen.

Die Daten wurden durch mündliche Befragung der Landwirte, mithilfe eines standardisierten Fragebogens erhoben (siehe Anhang 10.1). Es wurden allgemeine Angaben zum Betrieb erhoben, Daten zu den adulten Tieren und den Kälbern im Allgemeinen und spezifische Angaben zu den untersuchten Tieren. Zusätzlich wurden die Kälber bei jedem Besuch klinisch untersucht. Dabei wurde unter anderem die Kotkonsistenz beurteilt. Als normal wurde mittel- bis dickbreiiger Kot beurteilt. Dünnflüssiger, supziger und wässriger Kot wurden als Durchfall eingestuft. Der „Body Condition Score“ (BCS) der Kühe wurde gemäss der Einteilung von G. Rosenberg vorgenommen (Rosenberger et al., 1990).

Für die Probenahmen und Untersuchungen der Tiere lag eine Bewilligung des kantonalen Veterinäramtes Zürich vor.

### 4.2 Kolostrum und Milch

Sofort nach der Geburt des Kalbes wurde vom Muttertier Kolostrum in Form einer Vierviertelsgemelkprobe durch den Landwirt entnommen. Dafür wurden die Zitzen mit einem alkoholgetränkten Eutertüchlein (Intervet®) desinfiziert. Das Kolostrum wurde direkt in einen verschliessbaren Plastikbecher gegeben. Die Probenmenge betrug mindestens 100 ml. Die Probe wurde anschliessend bei 4°C gelagert und innert 12 Stunden verarbeitet.

Für die bakteriologische Untersuchung am Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene wurden 1-2 ml des Kolostrums in ein Milchröhrchen überführt. Standardmässig wurde auf Streptokokken, *Staphylococcus aureus*, andere Staphylokokken und *E. coli* untersucht. Auf Mycoplasmen wurden die Proben nicht untersucht.

Der Rest des Kolostrums wurde im Zellkulturlabor im Institut für Parasitologie der Universität Zürich weiterverarbeitet.

#### 4.2.1 Herstellung von Serum aus dem Kolostrum

Je 15 ml Kolostrum wurden auf 50 ml Plastikröhrchen (Greiner Bio-One) verteilt und mit je 30 ml PBS verdünnt (1:3). Das verdünnte Kolostrum wurde anschliessend 5 min bei 400 g zentrifugiert. Es

bildeten sich von oben nach unten drei Phasen: Fettschicht, kolostrales Serum und Zell-Pellet. Letzteres enthielt unter anderem Leukozyten.

Die Fettschicht wurde mittels Pipettenspitze abgetragen und in 1.5 ml Eppendorfröhrchen überführt. Anschliessend wurde das kolostrale Serum in ein Becherglas dekantiert, in 1.5 ml Eppendorfröhrchen überführt und bei -20°C, bzw. später bei -80°C eingefroren.

#### **4.2.2 Isolierung kolostraler Leukozyten mittels Ficoll-Gradienten**

Die Anreicherung der kolostralen Leukozyten erfolgte mittels Ficoll-Gradienten. Dazu wurde das bei der Herstellung von kolostralem Serum entstandene Zellpellet in PBS resuspendiert und 5 min bei 400 g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet ein weiteres Mal in PBS resuspendiert und zentrifugiert. Nach erneutem Verwerfen des Überstandes wurde das Pellet in PBS mit 2% v/v FCS resuspendiert.

Je 15 ml des resuspendierten Pellets wurden vorsichtig auf 15 ml Ficoll-Lösung (Ficoll Paque Plus, 17-1440-03, GE-Healthcare) geladen. Die Zentrifugation der Gradienten dauerte 30 min bei 400 g und einer Temperatur von 25°C.

Für die folgenden Schritte wurden ausschliesslich gekühlte Lösungen verwendet. Die Interphase des Ficoll-Gradienten, welche die kolostralen Leukozyten enthält, wurde abgesaugt und in PBS mit 2% FCS v/v gegeben. Die Proben wurden bei 4°C 5 min bei 400 g zentrifugiert. Der Überstand wurde abgekippt und das Pellet in PBS mit 2% v/v FCS resuspendiert und erneut zentrifugiert. Dieser Waschschritt wurde einmal wiederholt. Der Überstand wurde vorsichtig mittels Glaspipette abgesaugt. Die Interphase und das Pellet wurden in einem adäquaten Volumen PBS mit 2% v/v FCS resuspendiert und in einer Neubauer-Zählkammer ausgezählt. Tote Zellen wurden mit Trypanblau angefärbt. Die Zellen wurden in vier Kategorien eingeteilt: kleine Zellen, grosse granuläre Zellen, Lymphozyten-ähnliche Zellen und tote Zellen. Die restlichen Zellen wurden anschliessend in 90% FCS mit 10% v/v DMSO resuspendiert und bei -80°C eingefroren.

#### **4.2.3 Anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA Kolostrum**

Zum Nachweis von anti-Cryptosporidien-IgG im Blutserum und kolostralem Serum wurde ein indirektes ELISA-Verfahren entwickelt (C. Lippuner, 2010, nicht publiziert). Die Zusammensetzung der nachfolgend verwendeten Lösungen ist unter Anhang 10.2 aufgeführt.

Für die Herstellung des anti-Cryptosporidien-IgG-ELISAs wurde *Cryptosporidium parvum*-Triton Extrakt verwendet (Oozysten/Sporozysten Antigen-Batch, 8.3.2010; C. Lippuner, nicht publiziert). Zur Beschichtung der Maxisorp™ ELISA-Platten (Nunc) wurden 2.5 µg Antigen /ml Puffer I verwendet. Die Platten wurden bei 4°C über Nacht in einer feuchten Kammer inkubiert. Anschliessend wurden sie mit Waschlösung vier Mal gewaschen, wobei die ELISA-Platten nach jedem Waschschritt ausgeklopft wurden. Danach wurde die Oberfläche mit 300 µl Puffer II während 30 min bei 37°C in einer feuchten Kammer blockiert. In jede Vertiefung wurden anschliessend 100 µl der 1:200 mit Puffer II verdünnten Serumproben gegeben, wobei die Vertiefungen für die Substrat- und Konjugatkontrolle leer gelassen wurden. Für jede verdünnte Serumprobe wurde mit PBS eine Verdünnungsreihe von 1:1 bis 1:8 direkt auf der Platte hergestellt. Die finalen Serumkonzentrationen betrugen somit 1:200, 1:400, 1:800 und 1:1600. Damit allfällig vorhandene anti-Cryptosporidien-Immunglobuline an das Antigen auf der Testplatte binden konnten, wurde die ELISA-Platte 60 min bei 37°C in einer feuchten Kammer inkubiert. Nach der Inkubation wurde die Platte wie bereits beschrieben gewaschen. In einem weiteren Schritt wurde pro Vertiefung 100 µl 1:1500 verdünntes Konjugat (Ziegen anti-Rinder IgG (KPL)) gegeben. Die Vertiefung für die Substratkontrolle wurde leer gelassen. Die ELISA-Platten wurden erneut 60 min bei 37°C in einer feuchten Kammer inkubiert und anschliessend fünf Mal gewaschen. Als letzten Schritt wurde pro Vertiefung 100 µl Phosphatase Substrat-Lösung (1 mg/ml 4-Nitrophenylphosphat, Disodiumsalz Hexahydrat in Puffer III; Sigma) auf die Platte gegeben. Die Inkubationszeit betrug zwischen 20 und 40 min bei 37°C in einer feuchten Kammer. Anschliessend wurde die Extinktion bei 405 nm (Referenzwert von 630 nm) mittels Photometer (Multiskan RC, ThermoLabsystems) gemessen. Als Kontrolle enthielt jede Platte Referenzseren, welche von Platte zu

Platte immer die gleiche Extinktion aufweisen mussten. Die Inkubationszeit wurde dementsprechend angepasst.

#### 4.2.4 Radiale Immundiffusion (RID) Kolostrum

Mittels RID wurde die quantitative IgG-Konzentration im kolostralen Serum und Blutserum bestimmt (Fahey und McKelvey, 1965).

Das Prinzip der Methode besteht in der radialen Diffusion eines Antigens aus einer Vertiefung einer Agarose-Gel-Platte, welche einen monospezifischen Antikörper – hier einen Anti-IgG-Antikörper – enthält. Je nach Antigen und Antikörper bilden sich nach 12-72 Stunden Präzipitationsringe aus Antigen-Antikörperkomplexen. Es besteht ein linearer Zusammenhang zwischen dem quadrierten Durchmesser der Präzipitationsringe und der Antigenkonzentration.

Für die Messung der IgG-Konzentration im kolostralen Serum und im Blutserum wurde ein kommerzielles Test-Kit mit der Bezeichnung „RID Bovine IgG NL Kit“ (RN200.3, The Binding Site Group Ltd, P, England) verwendet. Der Test wurde gemäss Herstellerangaben durchgeführt. Der Durchmesser der Präzipitationsringe wurde nach 72 Stunden abgelesen.

Die Durchmesser der Präzipitationsringe wurden mit einem elektronischen Gerät „RID Plate Reader“ (The Binding Site) auf 0.01 mm genau ausgemessen. Auf jeder Platte wurden drei Standards aufgetragen, mit welchen eine Regressionsgerade erstellt wurde, um die Konzentration der Proben zu berechnen.

#### 4.2.5 Milchprobe

Beim 2. Besuch wurde beim Muttertier ein Schalmtest durchgeführt. Fanden sich mit dem Schalmtest keine Hinweise für eine Mastitis wurde eine Vierteltelgemelksprobe genommen. Wurde eine erhöhte Zellzahl in einem Viertel nachgewiesen wurden Einzelproben des betroffenen Euters genommen. Konnten klinische Veränderungen festgestellt werden, wurde vom betroffenen Viertel eine Milchprobe und eine Mischprobe der anderen drei, unauffälligen Viertel gezogen. Die Zitzen wurden vor der Probennahme mit einem Eutertüchlein (Intervet®) desinfiziert. Bei starker Verschmutzung wurden die Zitzen zusätzlich vor der Desinfektion manuell mit sauberem Stroh oder Papier trocken gereinigt. Danach wurde jeweils ca. 10 ml Milch in ein Milchröhrchen abgemolken. Die Milchproben wurden bei 4°C gelagert. Spätestens 24 Stunden nach Entnahme wurden sie dem Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Universität Zürich zur bakteriologischen Untersuchung übergeben. Standardmässig wurde auf Streptokokken, *Staphylococcus aureus*, andere Staphylokokken und *E. coli* untersucht. Auf Mycoplasmen wurden die Proben nicht untersucht.

#### 4.3 Blut

Beim Muttertier wurde eine einmalige Blutprobe beim 1. Besuch aus der *Vena coccygea* entnommen. Die Stelle wurde manuell gereinigt und mittels Euter-Alkoholputztüchlein (Intervet®) desinfiziert.

Den Kälbern wurde bei allen drei Besuchen eine Blutprobe entnommen. Die Entnahme erfolgte aus der *Vena jugularis* mithilfe einer Staukette.

Bei allen Tieren wurden drei verschiedene evakuierte Röhrchen verwendet: 6 ml VACUETTE® Z Serumröhrchen ohne Zusätze (Greiner Bio-One, Österreich), 2 ml VACUETTE® K<sub>3</sub>E K<sub>3</sub>EDTA-Röhrchen (Greiner Bio-One) und 9 ml VACUETTE® K<sub>3</sub>E K<sub>3</sub>EDTA-Röhrchen (Greiner Bio-One). Es wurde beim Muttertier und beim Kalb jeweils eine gelbe VACUETTE® 20 G-Nadel (Greiner Bio-One) verwendet.

#### **4.3.1 Serumherstellung**

Die 6 ml Vollblutproben wurden bis zur Weiterverarbeitung höchstens 12 Stunden bei 4°C gelagert. Zur Herstellung von Serum wurden sie 10 Minuten bei 4000 g zentrifugiert. Das Serum wurde auf 1.5 ml Eppendorfröhrchen aufgeteilt und bei -20°C eingefroren.

#### **4.3.2 Leukozytenzählung und Differentialblutbild**

Die 2 ml EDTA-Blutproben wurden schnellst möglich nach Entnahme an das Veterinärmedizinische Labor der Universität Zürich übergeben. Es wurden die Leukozyten gezählt und ein Blutaussstrich zur Differenzierung hergestellt. Ausgezählt wurden segment- und stabkernige neutrophile Granulozyten, eosinophile und basophile Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten. Ebenso wurde auf Auffälligkeiten des roten Blutbildes geachtet (Anisozytose, Poikilozytose etc.).

#### **4.3.3 Isolierung von Leukozyten aus EDTA-Blut**

Die 9 ml EDTA-Blutproben wurden bis zur Weiterverarbeitung höchstens 6 Stunden bei 4°C gelagert. Von jeder Probe wurde 5 ml EDTA-Blut mit 10 ml PBS verdünnt (1:2). Das verdünnte Blut wurde anschliessend direkt auf 15 ml Ficoll-Lösung (Ficoll Paque Plus, 17-1440-03, GE-Healthcare) geladen und bei 25°C 30 min bei 400 g zentrifugiert.

Für die folgenden Schritte wurden ausschliesslich gekühlte Lösungen verwendet. Die Interphase des Ficoll-Gradienten, welches die Leukozyten enthält, wurde abgesaugt und in PBS mit 2% v/v FCS gegeben. Die Proben wurden bei 4°C 5 min bei 400 g zentrifugiert. Der Überstand wurde vorsichtig mittels Glaspipette abgesaugt. Das Pellet wurde in 3 ml Erythrozyten-Lysis-Puffer resuspendiert und 3 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschliessend wurden die 50 ml Plastikröhrchen mit PBS mit 2% v/v FCS aufgefüllt und bei 400 g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet in PBS mit 2% v/v FCS resuspendiert und erneut zentrifugiert. Der Überstand wurde erneut verworfen und das Pellet in 5 ml PBS mit 2% v/v FCS resuspendiert und in einer Neubauer-Zählkammer ausgezählt. Tote Zellen wurden mit Trypanblau angefärbt. Die restlichen Zellen wurden anschliessend in 90% FCS mit 10% v/v DMSO resuspendiert und bei -80°C eingefroren.

#### **4.3.4 Anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA Blut**

Siehe Kapitel 4.2.3 Anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA Kolostrum.

#### **4.3.5 Radiale Immundiffusion (RID) Blut**

Siehe Kapitel 4.2.4 Radiale Immundiffusion (RID) Kolostrum.

### **4.4 Kot**

Die Kotproben wurden bei allen Tieren rektal entnommen, in einen verschliessbaren Plastikbecher überführt und bis zur Untersuchung bei 4°C gelagert.

#### **4.4.1 Parasitologische Kotprobenuntersuchungen**

Die parasitologische Kotprobenuntersuchung erfolgte innerhalb von 12 Stunden nach Entnahme in den Labors des Instituts für Parasitologie der Universität Zürich. Alle Untersuchungen wurden gemäss Vademekum des akkreditierten Diagnostikzentrums des Instituts für Parasitologie der Universität Zürich durchgeführt.

#### **4.4.1.1 Modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung zum Nachweis von Cryptosporidien-Oozysten**

Die modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung (Eckert et al., 2008) erlaubt den semiquantitativen Nachweis von Cryptosporidien-Oozysten.

Mit einem Wattestäbchen wurde eine dünne Schicht Kot auf einem Objektträger (OT) gleichmässig ausgestrichen. Der Ausstrich wurde ca. 30 min an der Luft getrocknet und anschliessend 4 min mit Methanol fixiert. Nach kurzer Lufttrocknung wurde der Ausstrich 4 min in Carbolfuchsin (Fluka, 21820) gefärbt. Der OT wurde mit kaltem Leitungswasser gespült bis das abfliessende Wasser keine Färbung mehr aufwies. Anschliessend wurde der Ausstrich mittels Eintauchen in salzsaurem Alkohol (15 ml HCl (37%) + 485 ml EtOH) entfärbt, bis keine Färbelösung mehr abfloss. Es erfolgte eine erneute Spülung mit kaltem Leitungswasser. Anschliessend erfolgte eine 4-minütige Gegenfärbung mit Brilliantgrün (0.5 g Brilliantgrün (Merck) + 100 ml Aqua dest.). Der OT wurde noch einmal mit kaltem Leitungswasser gespült, bis keine Färbelösung mehr sichtbar war. Der gefärbte Ausstrich wurde mittels Haartrockner getrocknet.

Die Ausstriche wurden im Durchlichtmikroskop bei 500- oder 1000-facher Vergrösserung mit Ölimmersion auf Cryptosporidien-Oozysten untersucht.

#### **4.4.1.2 SAFC-Methode zum Nachweis von Protozoen-Oozysten**

Die SAFC-Methode (sodium acetate-acetic acid-formalin concentration method) erlaubt den Nachweis von Oozysten und vegetativen Stadien von Protozoen, welche durch die Fixation erhalten bleiben (Eckert et al., 2008).

Ca. 1 g Kot wurde in ein Plastikröhrchen mit SAF-Lösung (siehe Anhang 10.2) gegeben. Die Röhrchen wurden gut geschüttelt und die SAF-Lösung mit dem Kot wurde durch einen mit Gaze ausgelegten Glastrichter in ein Zentrifugenglasröhrchen gegossen. Die Proben wurden 2 min bei 500 g zentrifugiert und der Überstand wurde verworfen. Zum Sediment wurden 8 ml physiologische NaCl-Lösung und 3 ml Diethylether gegeben. Mit einem Gummistopfen wurden die Röhrchen verschlossen und durch Schütteln wurde der Inhalt gut durchmischt. Anschliessend wurden die Proben 5 min bei 500 g zentrifugiert und der Überstand wurde verworfen. Das Sediment wurde mit einem Holzstäbchen gut durchmischt. Mit einer Pasteurpipette wurde jeweils ein Tropfen des Sediments auf einen OT gegeben und ein Deckglas aufgelegt. Die Tropfen wurden im Durchlichtmikroskop bei 100- und 400-facher Vergrösserung auf Protozoen-Oozysten untersucht.

#### **4.4.1.3 Kombiniertes Sedimentations/Flotations-Verfahren zum Nachweis von Helminthen-Eiern und Protozoen-Oozysten**

Mittels kombiniertem Sedimentations/Flotationsverfahren lassen sich Helminthen-Eier und Protozoen-Oozysten nachweisen (Eckert et al., 2008).

Als erstes erfolgte der Sedimentationsschritt. Dazu wurden 10 g Kot in einem Plastikbecher mit Leitungswasser zu einer homogenen Suspension verrührt. Die Kotsuspension wurde durch ein 6 mm Sieb in ein 250 ml Becherglas gegossen. Das Sieb wurde mit Leitungswasser nachgespült bis das Becherglas bis ca. 1 cm unter den Rand gefüllt war. Die Probe wurde 30 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Anschliessend wurde der Überstand vorsichtig abgegossen und das Sediment durch Schwenken des Becherglases gut durchmischt.

Als zweites erfolgte der Flotationsschritt. Dazu wurden ca. 2 ml des gut durchmischten Sediments in ein Zentrifugenröhrchen aus Glas überführt und bis ca. 1 cm unter den Rand mit Flotationslösung (Zinkchlorid in Wasser) mit Dichte 1.45 aufgefüllt. Die Proben wurden 5 min bei 500 g zentrifugiert. Mit einer Drahtöse wurden anschliessend ca. 4 Tropfen von der Suspensionsoberfläche auf einen OT überführt und ein Deckglas aufgelegt. Die Proben wurden im Durchlichtmikroskop bei 100- und 400-facher Vergrösserung auf Helminthen-Eier und Protozoen-Oozysten untersucht.

#### 4.4.2 Bio-X Digestive ELISA Kit (BIO K 348)

Das kommerzielle ELISA dient dem Nachweis von Rota- und Coronaviren, *E. coli* F5 und *Cryptosporidium parvum* in boviner Faeces (Bio-X Diagnostics, Belgien). Es handelt sich dabei um einen Sandwich-ELISA. Die Reihen der Platte enthalten alternierend spezifische und nicht-spezifische Antikörper. Die spezifischen Antikörper binden jeweils an Antigene von einem der vier oben genannten Enteropathogene. Die unspezifischen Antikörper erlauben die Unterscheidung zwischen spezifischer immunologischer Reaktion und unspezifischer Bindung und helfen somit falsch positive Resultate auszuschliessen.

Für diesen Test wurde der Kot innerhalb von 12 Stunden nach Entnahme in Eppendorfröhrchen überführt, eingefroren und bis zur Untersuchung bei -20°C gelagert. Die Proben wurden gemäss Herstellerangaben untersucht und ausgewertet.

#### 4.5 Statistische Auswertung

Alle erhobenen Daten und Untersuchungsergebnisse wurden in eine Excel-Tabelle übertragen. Wo nötig und sinnvoll wurden numerische Daten in kategoriale umgewandelt.

Die statistischen Auswertungen wurden mit dem Programm Stata 11 (StataCorp., 2009; Stata Statistical Software: Release 11.0; College Station, TX, USA: StataCorp LP) durchgeführt.

Nach dem Import in Stata 11 wurden alle Variablen als erstes deskriptiv analysiert. Für die univariate sowie multivariate logistische Regression wurden nur kategoriale Variablen weiterverwendet, welche  $n \geq 5$  in der kleinsten Kategorie hatten.

Die Variablen wurden auf Normalverteilung untersucht und wo nötig transformiert. Anschliessend wurden die Variablen einander mittels Korrelationsmatrix gegenübergestellt. War die Korrelation  $\geq 0.90$  wurde nur eine der beiden Variablen beibehalten.

Die Variablen wurden mit den Zielvariablen mittels univariater logistischer Regression analysiert. Es wurden nur Variablen beibehalten, welche einen p-Wert von  $\leq 0.20$  für die entsprechende Zielvariable aufwiesen. In einem nächsten Schritt wurden die Variablen fünf Kategorien zugeordnet, um eine Übersättigung des Modells zu vermeiden: Betriebsfaktoren, Faktoren welche das Management und die Haltung betreffen, Faktoren der Kuh, Faktoren des Kalbes und immunologische Faktoren. Die Variablen wurden entsprechend ihrem p-Wert geordnet. Innerhalb dieser Kategorien wurde für jede Zielvariable ein Modell mittels multivariater logistischer Regression im „step-forward“ Verfahren erstellt. Dabei wurden die Variablen mit den kleinsten p-Werten als erstes in das Modell einbezogen. Variablen mit einem  $p > 0.20$ , bzw. mit dem grössten p-Wert wurden aus dem Modell ausgeschlossen. Die Variablen aus den Modellen für jede einzelne Kategorie wurden anschliessend für jede Zielvariable mittels multivariater logistischer Regression im „step-forward“ Verfahren in einem Gesamtmodell analysiert. Variablen mit einem  $p > 0.20$  wurden aus dem Modell ausgeschlossen. Grundsätzlich wurde ein p-Wert von  $\leq 0.05$  als signifikant angesehen.

## 5. Resultate

### 5.1 Deskriptive Statistik

#### 5.1.1 Betriebe und Tiere

##### 5.1.1.1 Betriebe

Von den 20 in die Studie mit einbezogenen Betriebe handelte es sich um 5 Mutterkuh- (1 Bio-, 4 IP-Betriebe) und 15 Milchviehbetriebe (2 Bio-, 13 IP-Betriebe). Die Anzahl Tiere der Rindergattung variierte zwischen 9 und 120 Tieren, mit einem Mittelwert von 54.3 Tiere (Median: 46; SD: 29.3).

9 Betriebe hielten ihre Tiere in Anbindehaltung (1 Offenstall, 8 geschlossene Ställe) und 11 in einem Laufstall (8 Offen-, 3 geschlossene Ställe).

Von 20 Betrieben kauften 9 keine Tiere zu. Kein Betrieb stellte die Tiere nach dem Kauf unter Quarantäne.

##### 5.1.1.2 Kühe

Die 63 untersuchten Kühe waren zwischen 2.5 und 18.5 Jahre alt, mit einem Mittelwert von 6.3 Jahren (Median: 5.5; SD: 3.3). Die durchschnittliche Milchleistung der Kühe betrug zwischen 4618 und 10'000 Liter, mit einem Mittelwert von 6901 Litern (Median: 6500; SD: 1261).

##### 5.1.1.3 Kälber

Die 64 untersuchten Kälbern gehörten den Rassen Braunvieh (n=19), Rotfleck (n=19), Simmentaler (n=11), Angus (n=5), Dexter (n=2), Limousin (n=2), Holstein Friesian (n=1) und Jersey (n=1) an. Weitere 4 Kälber waren Mastkreuzungen. Dabei waren bei 30 Kälbern mehr als eine Rinderrasse auf dem Betrieb vorhanden, bei 34 nur eine.

Es handelte sich um 33 männliche, 30 weibliche Kälber und 1 Zwicke. Beim 1. Besuch waren die Kälber zwischen 1 und 4 Tage alt, durchschnittlich 2.6 Tage (Median: 3.0; SD: 0.8). Beim 2. Besuch zwischen 7 und 20 Tage alt und durchschnittlich 11.8 Tage (Median: 11.0; SD: 3.2). Der 3. Besuch fand zwischen 26 und 49 Tage, durchschnittlich 34.4 Tage *pn* statt (Median: 34.0; SD: 4.3).

52 Kälber stammten aus Milchviehbetrieben (44 aus IP-, 8 aus Biobetrieb) und 12 aus Mutterkuhherden (10 aus IP-, 2 aus Biobetrieb).

Von den 64 Kälbern waren 38 auf einem Betrieb mit Abkalbeboxe geboren worden.

26 der 64 Kälber stammten aus Betrieben, die laut Besitzer Bestandesprobleme bezüglich Kälberdurchfall haben.

#### 5.1.2 Blutuntersuchungen

##### 5.1.2.1 Kühe

Der IgG-Gehalt im Blut der Kühe 1 bis 4 Tage *pp* lag zwischen 8.7 und 40.8 g/l, mit einem Mittelwert von 22.6 (Median: 20.6; SD: 8.2). Der Extinktionswert für den anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA bei einer Verdünnung von 1:400 betrug durchschnittlich 0.314 und lag zwischen 0.104 und 1.055 (Median: 0.249; SD: 0.180).

In Tabelle 1 sind die Ergebnisse der Differentialblutbilder, sowie der Leukozytenzählung, nach Isolierung mittels Ficoll-Gradienten, aufgelistet.



**Tabelle 1: Ergebnisse der Differentialblutbilder und der Leukozytenzählung (Isolierung mittels Ficoll-Gradienten) der Kühe (Angaben in E3/ $\mu$ l).**

Parameter	Mittelwert	Median	SD	Minimum	Maximum
Leukozyten total	7.32	7.10	2.27	1.80	12.60
Neutrophile Granulozyten					
Segmentkernige	3.31	3.01	2.14	0.17	8.72
Stabkernige	0.06	0.00	0.14	0.00	0.58
Eosinophile Granulozyten	0.37	0.28	0.31	0.00	1.78
Basophile Granulozyten	0.04	0.03	0.04	0.00	0.22
Monozyten	0.68	0.61	0.36	0.13	2.00
Lymphozyten	2.87	2.86	0.90	0.84	5.04
Leukozytenzählung	7.84E3	5.50E3	6.62E3	8.00E2	3.12E4

### 5.1.2.2 Kälber

Der durchschnittliche IgG-Gehalt im Blut der Kälber betrug zum Zeitpunkt des 1. Besuchs (Tag 1-4 *pp*) 27.38 g/l, mit einem Mindestwert von 2.28 und einem Maximalwert von 62.15 (Median: 25.18; SD: 15.42). Beim 2. Besuch (Tag 7-20 *pp*) lagen die Werte zwischen 1.44 und 42.15 g/l, mit einem Mittelwert von 19.70 (Median: 19.49; SD: 10.40). Zum Zeitpunkt des 3. Besuchs (Tag 26-49 *pp*) variierten die Werte zwischen 3.94 und 27.28 g/l, mit einem Mittelwert von 14.25 (Median: 14.46; SD: 5.10). Tendenziell hatten Kälber von Kühen mit einem hohen IgG-Gehalt im Kolostrum, einen höheren IgG-Wert im Blutserum. Die Extinktionswerte für den anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA bei einer Verdünnung von 1:400 für die verschiedenen Besuchszeitpunkte sind in der Tabelle 2 aufgelistet.

Die Tabellen 3.1, 3.2 und 3.3 stellen die Ergebnisse der Differentialblutbilder der Kälber zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten sowie der Leukozytenzählung, nach Isolierung mittels Ficoll-Gradienten, dar.

**Tabelle 2: Extinktionswerte der Kälberseren (Verdünnung 1:400) für den anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten.**

Besuchszeitpunkt	Mittelwert	Median	SD	Minimum	Maximum
1. Besuch	0.489	0.430	0.346	0.029	1.677
2. Besuch	0.396	0.343	0.309	0.031	1.293
3. Besuch	0.346	0.260	0.274	0.041	1.130

**Tabelle 3.1: Ergebnisse der Differentialblutbilder und der Leukozytenzählung (Isolierung mittels Ficoll-Gradienten) zum Zeitpunkt des 1. Besuchs (Tag 1-4 *pp*; Angaben in E3/ $\mu$ l).**

Parameter	Mittelwert	Median	SD	Minimum	Maximum
Leukozyten total	10.20	9.30	5.28	4.32	40.27
Neutrophile Granulozyten					
Segmentkernige	6.27	5.25	4.52	1.02	29.60
Stabkernige	0.02	0.00	0.07	0.00	0.51
Eosinophile Granulozyten	0.14	0.03	0.51	0.00	4.03
Basophile Granulozyten	0.07	0.06	0.07	0.00	0.38
Monozyten	0.66	0.56	0.42	0.09	1.98
Lymphozyten	3.04	2.84	1.06	1.29	6.04
Leukozytenzählung	6.66E3	6.42E3	4.60E3	7.00E2	2.67E4

**Tabelle 3.2: Ergebnisse der Differentialblutbilder und der Leukozytenzählung (Isolierung mittels Ficoll-Gradienten) zum Zeitpunkt des 2. Besuchs (Tag 7-20 *pp*; Angaben in E3/ $\mu$ l).**

Parameter	Mittelwert	Median	SD	Minimum	Maximum
Leukozyten total	12.23	11.75	4.12	6.40	23.65
Neutrophile Granulozyten					
Segmentkernige	6.58	5.41	3.75	2.14	18.57
Stabkernige	0.04	0.00	0.18	0.00	1.33
Eosinophile Granulozyten	0.02	0.00	0.05	0.00	0.34
Basophile Granulozyten	0.05	0.04	0.05	0.00	0.19
Monozyten	0.77	0.63	0.53	0.20	2.97
Lymphozyten	4.79	4.42	1.60	2.45	9.63
Leukozytenzählung	1.03E4	9.30E3	7.78E3	1.49E3	5.67E4

**Tabelle 3.3: Ergebnisse der Differentialblutbilder und der Leukozytenzählung (Isolierung mittels Ficoll-Gradienten) zum Zeitpunkt des 3. Besuchs (Tag 26-49 *pp*; Angaben in E3/ $\mu$ l).**

Parameter	Mittelwert	Median	SD	Minimum	Maximum
Leukozyten total	9.91	9.05	3.42	6.30	24.40
Neutrophile Granulozyten					
Segmentkernige	3.92	3.09	2.76	0.93	16.84
Stabkernige	2.28E-03	0.00	0.01	0.00	0.05
Eosinophile Granulozyten	0.05	0.00	0.09	0.00	0.43
Basophile Granulozyten	0.05	0.04	0.05	0.00	0.18
Monozyten	0.59	0.50	0.37	0.10	2.32
Lymphozyten	5.29	4.97	1.63	2.82	10.91
Leukozytenzählung	8.53E3	8.28E3	4.16E3	1.34E3	2.01E4

### 5.1.3 Kolostrumuntersuchung

Der durchschnittliche IgG-Gehalt im Kolostrum der untersuchten Kühe lag bei 111.33 g/l, wobei Werte zwischen 21.02 und 225.43 gemessen wurden (Median: 110.62; SD: 45.93). Die in der untersuchten Population gemessenen Werte waren normalverteilt (Abbildung 1). Die Extinktionswerte für den anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA bei einer Verdünnung von 1:400 lagen zwischen 0.058 und 1.480, mit einem Mittelwert von 0.560 (Median: 0.467; SD: 0.338).

Von den 63 untersuchten kolostralen Proben konnten in 6 mittels bakteriologischer Untersuchung keine Erreger nachgewiesen werden. In 58.7% der Proben wurden unspezifische Mischkulturen gefunden, welche auf Kontamination während der Kolostrumgewinnung zurückzuführen sind. In 38.1% der Proben wurden *Staphylococcus spp.* nachgewiesen und bei einer Kuh *Staphylococcus aureus*. *E. coli* wurde in 11.1% und *Streptococcus spp.* in 6.4% der Proben gefunden. Bei einer Kuh wurden Corynebakterien gefunden. 7.9% der Proben enthielten *Proteus spp.*, Gram-negative oder Gram-positive Stäbchen (Tabelle 4.1).

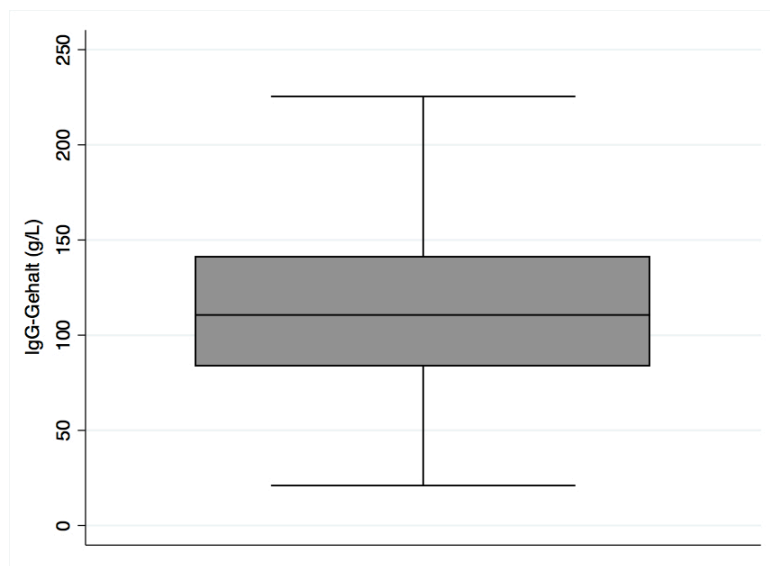


Abbildung 1: IgG-Gehalt im Kolostrum der untersuchten Kühe.

Tabelle 4.1: Im Kolostrum vorhandene Bakterienarten (Mehrfachnennungen).

Erreger	Proben (n=63)
Keine	6
unspezif. Mischkultur	37
<i>Staphylococcus spp.</i>	24
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>E. coli</i>	7
<i>Streptococcus spp.</i>	4
<i>Corynebacterium spp.</i>	1
Andere	5

In 57.1% aller Proben wurde nur ein Bakterium nachgewiesen, in 31.8% wurden zwei Bakterien nachgewiesen und bei einer Kuh wurden drei verschiedene Bakterien in der Kolostrumprobe nachgewiesen (Tabelle 4.2).

**Tabelle 4.2: Anzahl vorhandener Bakterienarten im Kolostrum.**

Anzahl Bakterien	Anzahl Proben (n=63)
Keine	6
1 Bakterienart	36
2 Bakterienarten	20
3 Bakterienarten	1

### 5.1.4 Milchuntersuchung

Beim 1. Besuch (1-4 Tage *pp*) hatten 56.6% der Kühe ein positives Schalmtest-Ergebnis (n=30), wobei bei 10 Kühen kein Schalmtest durchgeführt werden konnte. Beim 2. Besuch (7-20 Tage *pp*) waren von den 52 untersuchten Kühe 30.8% positiv (n=16).

Die bakteriologische Untersuchung der Milch beim 2. Besuch wurde bei 52 Kühen durchgeführt. Bei 10 Kühen konnte keiner der gesuchten Erreger identifiziert werden. In 65.4% der Proben waren *Staphylococcus spp.* zu finden, in 34.6% unspezifische Mischkulturen, in 9.6% *Corynebacterium spp.* und in 3.9% der Milchproben *E. coli* (Tabelle 5.1). In 48.1% der Proben wurde ein Bakterium gefunden und in 32.7% zwei verschiedene (Tabelle 5.2).

Es bestand kein signifikanter statistischer Zusammenhang zwischen dem Ergebnis des Schalmtestes und dem Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung der Milch beim 2. Besuch (Fisher's Exact-Test:  $p=0.15$ ).

**Tabelle 5.1: In der Milch vorhandene Bakterienarten (7-20 Tage *pp*; Mehrfachnennungen).**

Erreger	Proben (n=52)
Keine	10
unspezif. Mischkultur	18
<i>Staphylococcus spp.</i>	34
<i>E. coli</i>	2
<i>Corynebacterium spp.</i>	5

**Tabelle 5.2: Anzahl vorhandener Bakterienarten in der Milch (7-20 Tage *pp*).**

Anzahl Bakterien	Anzahl Proben (n=52)
Keine	10
1 Bakterienart	25
2 Bakterienarten	17

### 5.1.5 Enteropathogene

#### 5.1.5.1 Kühe

Nur eine Kuh schied Rotaviren aus und bei keiner konnten Coronaviren nachgewiesen werden. Bei 30.2% der Kühe wurden *E. coli* F5 gefunden. 15.9% schieden Cryptosporidien-Oozysten aus. Bei keiner Kuh konnten *Giardia*-Zysten nachgewiesen werden. Bei 52.4% der Kühe wurden Eier von

Magen-Darm-Strongyliden (MDS) nachgewiesen. 20.6% schieden *Eimeria*-Oozysten aus. Weiter wurden bei 4.8% der Kühe *Dicrocoelium*-Eier nachgewiesen (Tabelle 6.1).

**Tabelle 6.1: Im Kot nachgewiesene Pathogene der Kühe (n = 63) beim 1. Besuch.**

Erreger	Anzahl Kühe
Rotaviren	1
Coronaviren	0
<i>E. coli</i> F5	19
<i>C. parvum</i> ZN-Färbung	0
ELISA	10
Total	10
<i>Giardia spp.</i>	0
MDS	33
<i>Eimeria spp.</i>	13
<i>Dicrocoelium spp.</i>	3

Tabelle 6.2 listet die Häufigkeit des Vorkommens von Einzel- oder Mehrfachausscheidern von Enteropathogenen auf. Lediglich 7.9% der Kühe schieden zum Untersuchungszeitpunkt keine der untersuchten Erreger aus. Mit 38.1%, bzw. 36.5% schieden fast gleich viele Kühe ein, bzw. zwei Enteropathogene aus. Bei 15.9% aller Kühe wurden drei verschiedene der in Tabelle 6.1 aufgelisteten Erreger gefunden. Bei einer Kuh (1.6%) wurden vier verschiedene Erreger nachgewiesen (Tabelle 6.2). Keine Kuh zeigte klinische Symptome einer durch Enteropathogene hervorgerufenen Darmerkrankung. Es bestand keinen direkten statistischen Zusammenhang zwischen dem Nachweis von Enteropathogenen und dem Entwurmungsmanagement auf dem Betrieb.

**Tabelle 6.2: Häufigkeit des Vorkommens von Enteropathogenen bei den Kühen.**

	Anzahl Kühe
Keine Enteropathogene	5
1 Enteropathogen	24
2 Enteropathogene	23
3 Enteropathogene	10
4 Enteropathogene	1
Anzahl Kühe total	63

### 5.1.5.2 Kälber

#### 1. Besuch (Tag 1-4):

Cryptosporidien wurden zum Zeitpunkt des 1. Besuchs bei 34.4% aller Kälber nachgewiesen. Weiter wurden bei je 4.7% der Kälber Coronaviren und/oder *E. coli* F5 gefunden. Nur 3.1% der Kälber schieden zu diesem Zeitpunkt Rotaviren und nur 1 Kalb schied *Giardia*-Zysten aus (Tabelle 7.1).

### 2. Besuch (Tag 7-20):

Zum Zeitpunkt des 2. Besuchs schieden 54.0% aller Kälber Cryptosporidien aus. Bei 28.6% der untersuchten Kälber wurden Rotaviren nachgewiesen. *Giardia*-Zysten wurden bei 6.4% der Kälber gefunden. Lediglich 3.2% der Kälber schieden *E. coli* F5 aus. Bei keinem Kalb wurden zu diesem Zeitpunkt Coronaviren nachgewiesen (Tabelle 7.1).

### 3. Besuch (Tag 26-49):

Bei 36.7% der Kälber wurden zum Zeitpunkt des 3. Besuchs *Eimeria*-Oozysten im Kot gefunden. 35.0% der Kälber schieden *Giardia*-Zysten aus und 33.3% Cryptosporidien-Oozysten. Bei 15.0% aller Kälber wurden *E. coli* F5 nachgewiesen. Weiter konnten bei 13.3% Rotaviren und bei 11.7% *Strongyloides*-Eier nachgewiesen werden. Bei keinem Kalb wurden zu diesem Zeitpunkt Coronaviren nachgewiesen (Tabelle 7.1).

**Tabelle 7.1: Enteropathogene der Kälber zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten.**

Erreger	Anzahl Tiere		
	1. Besuch (n = 64)	2. Besuch (n = 63)	3. Besuch (n = 60)
Rotavirus	2	18	8
Coronavirus	3	0	0
<i>E. coli</i> F5	3	2	9
<i>C. parvum</i>	ZN-Färbung	21	11
		28	11
		16	16
	ELISA	31	16
	Total	22	20
<i>Giardia spp.</i>	1	4	21
<i>Eimeria spp.</i>	nd	nd	22
MDS	nd	nd	3
<i>Strongyloides spp.</i>	nd	nd	7

nd: nicht durchgeführt

Tabelle 7.2 listet die Häufigkeit des Vorkommens von Einzel- oder Mehrfachausscheidern von Enteropathogenen bei Kälbern zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten auf.

### 1. Besuch (Tag 1-4):

62.5% der Kälber schieden zum Zeitpunkt des 1. Besuchs keine der untersuchten Enteropathogene aus. Bei 32.8% der Kälber wurde ein Erreger, bei 1.6% zwei und bei 3.1% wurden vier Enteropathogene nachgewiesen (Tabelle 7.2).

### 2. Besuch (Tag 7-20):

Zum Zeitpunkt des 2. Besuchs schieden 33.3% der Kälber keine der untersuchten Enteropathogene aus. 44.4% der Kälber schied nur ein Erreger aus. Zwei, bzw. drei verschiedene Enteropathogene wurden von 19.1%, bzw. 3.2% aller Kälber ausgeschieden (Tabelle 7.2).

### 3. Besuch (Tag 26-49):

Bei 23.3% der Kälber konnte beim 3. Besuch keine der untersuchten Enteropathogene nachgewiesen werden. 28.3% schied nur ein Erreger, 30.0% schied zwei, 11.7% schied drei und 6.7% schied vier verschiedene Enteropathogene aus (Tabelle 7.2).

Tabelle 7.2: **Anzahl Enteropathogene pro Kalb.**

	Anzahl 1. Besuch	Anzahl 2. Besuch	Anzahl 3. Besuch
Keine Enteropathogene	40	21	14
1 Enteropathogen	21	28	17
2 Enteropathogene	1	12	18
3 Enteropathogene	0	2	7
4 Enteropathogene	2	0	4
Anzahl Kälber total	64	63	60

Die Anzahl der Kälber, welche keine der untersuchten Erreger ausgeschieden haben, nimmt mit zunehmendem Alter der Kälber ab. Umgekehrt nimmt die Anzahl der Kälber, welche Enteropathogene ausgeschieden haben, mit dem Alter der Kälber zu (Abbildung 2a).

Dabei nahm mit steigendem Alter der Kälber nicht nur die totale Anzahl der Kälber, welche Erreger ausgeschieden haben zu, sondern auch die Anzahl der verschiedenen Enteropathogene die pro Kalb ausgeschieden wurden (Abbildung 2b).

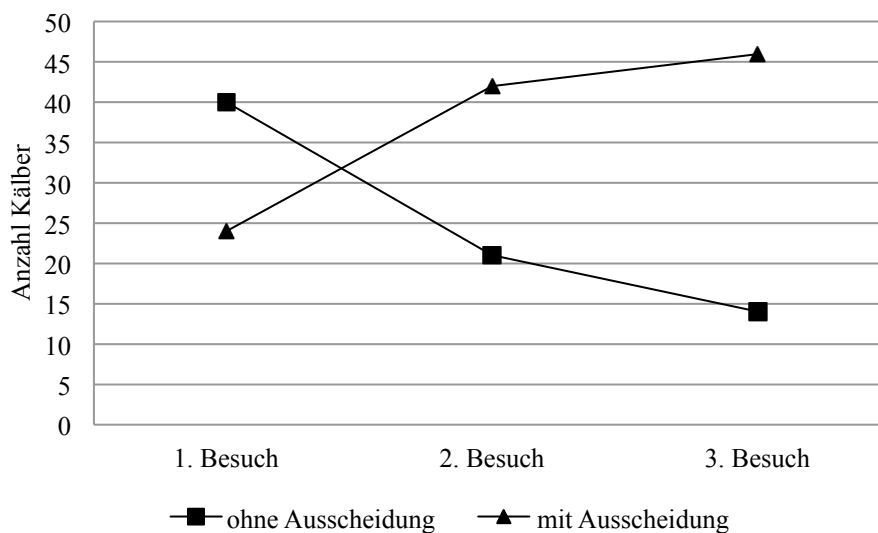


Abbildung 2a

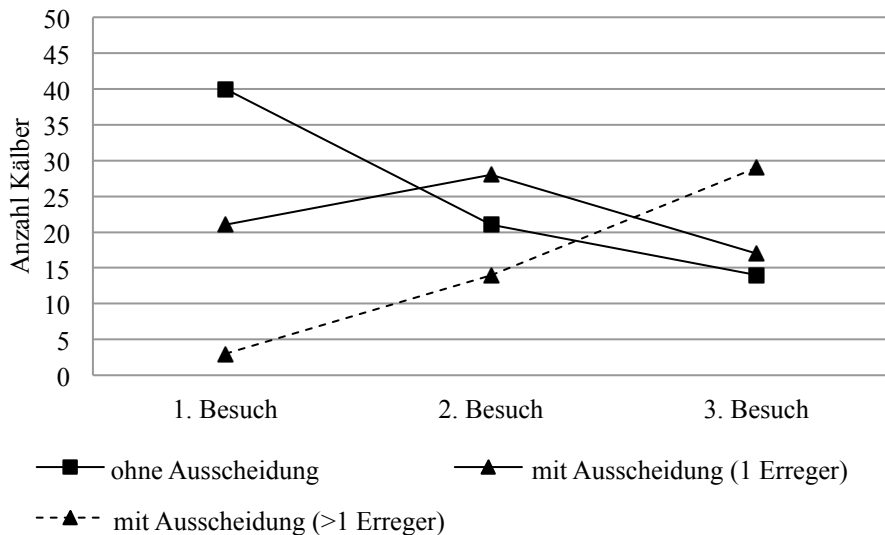


Abbildung 2b

Abbildungen 2: **Vergleich der Kälber ohne und mit Enteropathogen-Ausscheidung (2a) und Anzahl der ausgeschiedenen Pathogene (2b) zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten.**

### 5.1.6 Cryptosporidien

Bei 15.9% aller untersuchten Kühe wurden Cryptosporidien-Oozysten nachgewiesen. Zum Zeitpunkt des 1. Besuchs wurden bei 34.4% der Kälber Cryptosporidien-Oozysten im Kot gefunden. Beim 2. bzw. 3. Besuch wurden bei 54.0%, bzw. 33.3% aller Kälber Cryptosporidien-Oozysten nachgewiesen. Das entsprechende Maximum liegt beim Zeitpunkt des 2. Besuchs.

Das Vorkommen von Cryptosporidien bei den untersuchten Kälbern zu den verschiedenen Zeitpunkten ist in Abbildung 3 dargestellt. Bei 13.3% der Kälber waren zu keinem der drei Untersuchungszeitpunkte Cryptosporidien nachweisbar. Bei 56.7% der Kälber konnten Cryptosporidien-Oozysten lediglich bei einem der drei Besuche nachgewiesen werden. Bei 26.7% der untersuchten Kälber wurden bei zwei unterschiedlichen Besuchen Cryptosporidien gefunden. Nur 3.3% aller Kälber schieden zu allen drei Besuchszeitpunkten Cryptosporidien aus.

Ob die Mutter des jeweiligen Kalbes Cryptosporidien ausgeschieden hat, hatte keinen Einfluss auf das Ausscheidungsmuster des Kalbes (Fisher's exact Test:  $p=0.542$ ).



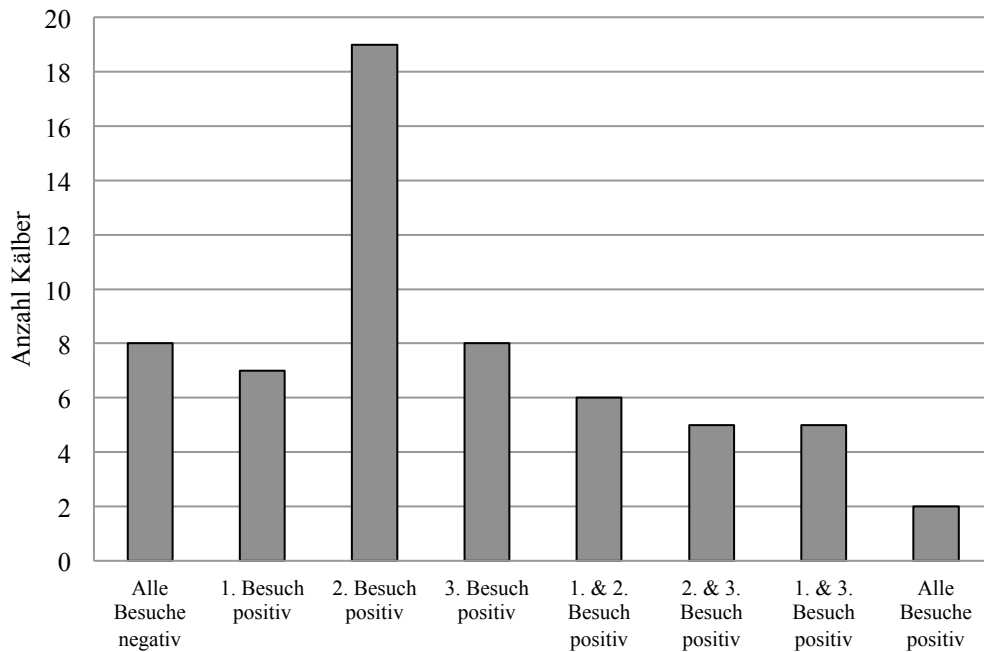


Abbildung 3: Vorkommen von Cryptosporidien bei den Kälbern bezüglich Untersuchungszeitpunkten.

### 5.1.7 Durchfall

Zum Zeitpunkt des 1. Besuchs litten 18.8% der untersuchten Kälber an Durchfall. Beim 2. Besuch wurde bei 39.7% und beim 3. Besuch bei 35.0% aller Kälber Durchfall festgestellt (Tabelle 8).

Tabelle 8: Vorkommen von Durchfall zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten.

	1. Besuch	2. Besuch	3. Besuch
Kein Durchfall	52	38	39
Mit Durchfall	12	25	21

Die Zahl der Kälber mit Durchfall erreichte ihren Höchstwert zum Zeitpunkt des 2. Besuchs, wie in Abbildung 4 ersichtlich ist.

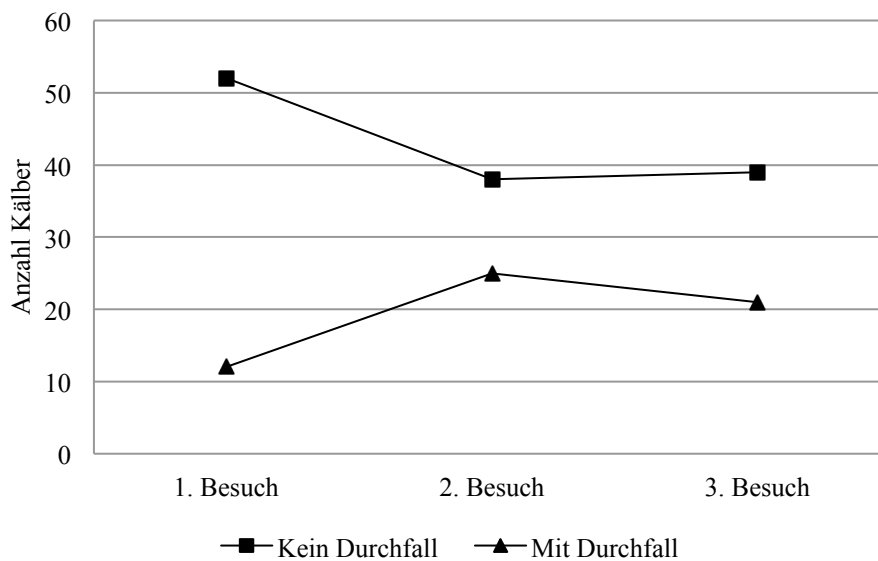


Abbildung 4: Vorkommen von Durchfall bei den Kälbern zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten.

### 5.1.8 Cryptosporidien und andere Enteropathogene und Durchfall

Zum Zeitpunkt des 1. Besuchs litten 7.8% aller Kälber an Durchfall und schieden gleichzeitig Cryptosporidien aus. 26.6% der Kälber schieden Cryptosporidien aus ohne an Durchfall zu leiden. Beim 2. Besuch schieden 25.4% der untersuchten Kälber Cryptosporidien aus und litten an Durchfall; 28.6% der Kälber waren zu diesem Zeitpunkt asymptomatische Ausscheider. Lediglich 8.3% der Kälber litten beim 3. Besuch an Durchfall mit Ausscheidung von Cryptosporidien, 25.0% schieden Cryptosporidien ohne Durchfallssymptomatik aus (Tabelle 9; Abbildung 5). Der Höchstwert der symptomatischen Cryptosporidien-Ausscheidung liegt beim Zeitpunkt des 2. Besuchs (Abbildung 5). Es besteht beim 1., bzw. 3. Besuch kein Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von Cryptosporidien und dem Durchfall (Chi<sup>2</sup>-Test: p=0.555, bzw. p=0.251). Zum Zeitpunkt des 2. Besuchs besteht tendenziell ein schwacher Zusammenhang (Chi<sup>2</sup>-Test: p=0.195).

Tabelle: 9: Vorkommen von Cryptosporidien und Vorhandensein von Durchfall bei Kälbern zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten (CA: Cryptosporidien-Ausscheidung; DF: Durchfall).

	mit DF/mit CA	kein DF/mit CA	mit DF/keine CA	kein DF/keine CA
1. Besuch	5	17	7	35
2. Besuch	16	18	9	20
3. Besuch	5	15	16	24

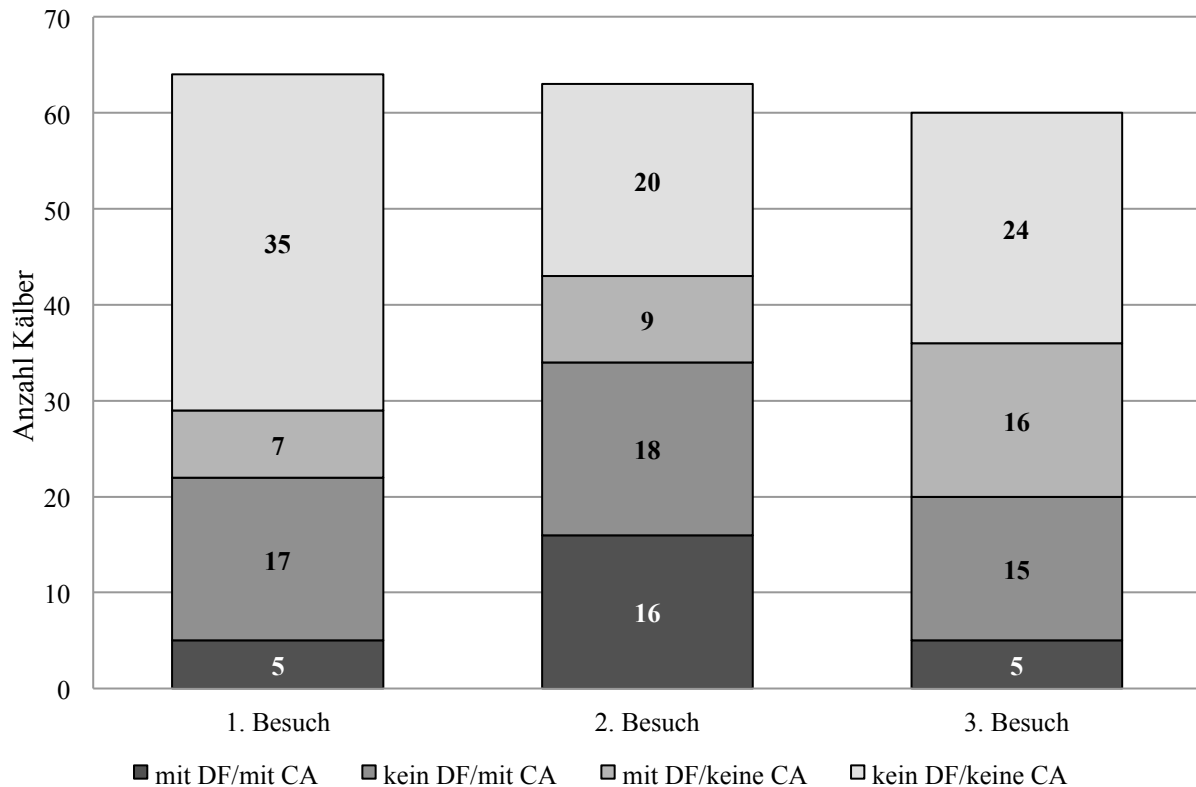


Abbildung 5: **Cryptosporidien-Ausscheidung (CA) und Vorhandensein von Durchfall (DF) zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten.**

Zum Zeitpunkt des 1. Besuchs schied der grösste Teil der Kälber Cryptosporidien als einzigen Erreger asymptomatisch aus (Tabelle 10.1; Abbildung 6).

Tabelle 10.1: **Vorkommen von Enteropathogenen (davon Cryptosporidien) im Zusammenhang mit Durchfall zum Zeitpunkt des 1. Besuchs (Tag 1-4 *pn*).**

	Keine	1 Enteropathogen	>1 Enteropathogen
Mit Durchfall	6 (0)	5 (4)	1 (1)
Ohne Durchfall	34 (0)	16 (15)	2 (2)

Zum Zeitpunkt des 2. Besuchs nahm die Anzahl der Kälber, welche mindestens 1 Enteropathogen ausgeschieden haben zu (Tabelle 10.2; Abbildung 6).

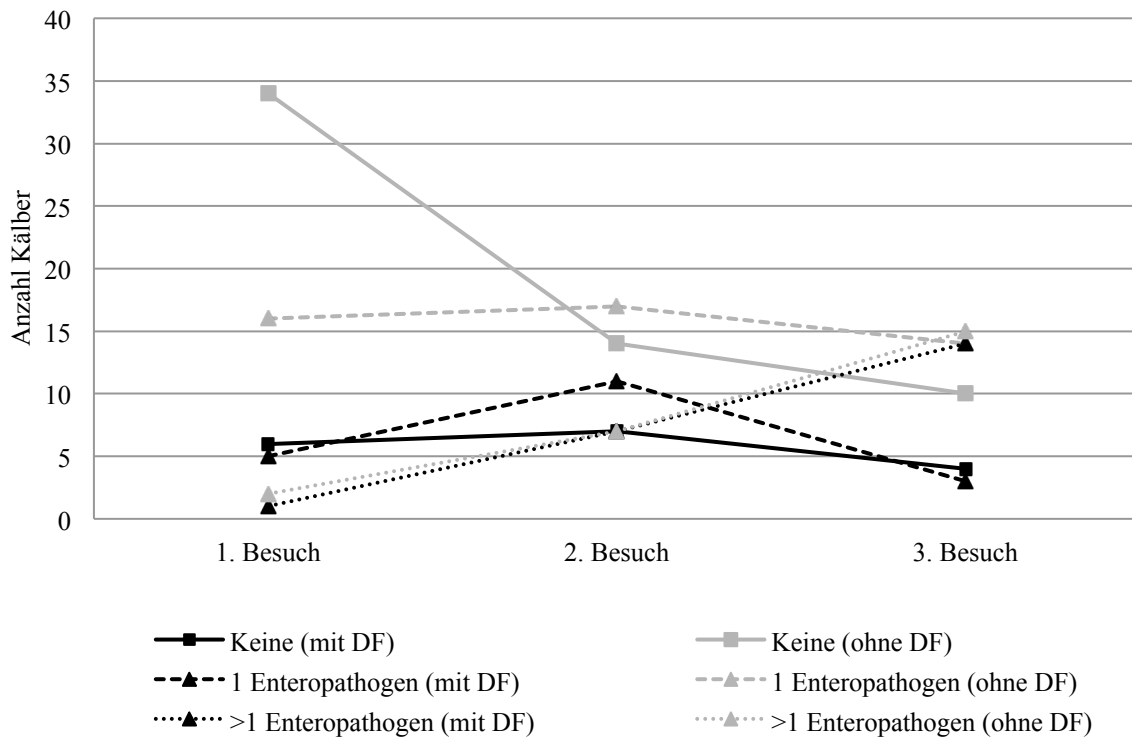
Tabelle 10.2: **Vorkommen von Enteropathogenen (davon Cryptosporidien) im Zusammenhang mit Durchfall zum Zeitpunkt des 2. Besuchs (Tag 7-20 *pn*).**

	Keine	1 Enteropathogen	>1 Enteropathogen
Mit Durchfall	7 (0)	11 (9)	7 (7)
Ohne Durchfall	14 (0)	17 (11)	7 (7)

Zum Zeitpunkt des 3. Besuchs schied die Mehrheit der Kälber mehr als ein Enteropathogen aus. Mehr als die Hälfte dieser Kälber schieden unter anderem Cryptosporidien aus, wobei zwei Drittel davon asymptomatisch geschah (Tabelle 10.3; Abbildung 6).

**Tabelle 10.3: Vorkommen von Enteropathogenen (davon Cryptosporidien) im Zusammenhang mit Durchfall zum Zeitpunkt des 3. Besuchs (Tag 26-49 *pn*).**

	Keine	1 Enteropathogen	>1 Enteropathogen
Mit Durchfall	4 (0)	3 (0)	14 (5)
Ohne Durchfall	10 (0)	14 (4)	15 (11)



**Abbildung 6: Vorkommen von Enteropathogenen im Zusammenhang mit Durchfall zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten.**

## 5.2 Statistische Modelle

Die univariate logistische Regression ergab sehr viele Faktoren, welche einen statistischen Einfluss auf die Zielvariable hatten ( $p \leq 0.20$ ). Diese wurden fünf verschiedenen Kategorien zugeordnet und innerhalb dieser Kategorien weiter analysiert. Namentlich waren dies Betriebsfaktoren, Faktoren welche das Management und die Haltung betreffen, Faktoren der Kuh, Faktoren des Kalbes und immunologische Faktoren.

Mittels multivariater logistischer Regression wurden Modelle für die verschiedenen Zielvariablen hergestellt (siehe Kapitel Material und Methoden). Im Folgenden sind die multivariaten logistischen Regressionsanalysen mit „step-forward“ Verfahren aller Faktoren mit  $p \leq 0.20$  dargestellt.

### 5.2.1 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich Durchfall zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten

Die Tabellen 11.1, 11.2 und 11.3 listen die bezüglich Durchfalls zu den drei verschiedenen Besuchszeitpunkten relevanten Faktoren auf. Infolge Verlustes an Freiheitsgraden war es nicht möglich eine statistische Analyse aller Faktoren in einem Modell durchzuführen, welches zusammenfassend für die ersten eineinhalb Lebensmonaten der Kälber stehen würde.

Tabelle 11.1: **Logistische Regression bezüglich Durchfall beim 1. Besuch (Tag 1-4 *pn*).**  
kein Durchfall (n=52), mit Durchfall (n=12)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
ln(Alter Kuh in Jahren)	118.81	2.32 – 6082.59
Stalltyp	36.85	1.36 – 1000.98
Euter obB	38.18	1.21 – 1207.21
ln(grosse Zellen im Pellet) <sup>#</sup>	2.07 <sup>#</sup>	0.91 – 4.70
ln(Neutrophile 1. Besuch) <sup>#</sup>	0.13 <sup>#</sup>	0.01 – 1.50

# Tendenz:  $0.05 < p \leq 0.20$

Tabelle 11.2: **Logistische Regression bezüglich Durchfall beim 2. Besuch (Tag 7-20 *pn*).**  
kein Durchfall (n=38), mit Durchfall (n=25)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
ZN 2. Besuch	68.4	2.53 – 1850.37
ln(Neutrophile 1. Besuch)	0.02	8.66E-4 – 0.45
Kolostrumerstgabe	47.1	2.06 – 1077.10
IgG-Gehalt im Kolostrum	0.95	0.91 – 9.97E-1
1/(Alter Kb 2. Besuch) <sup>#</sup>	2.00E27	3.43E-10 – 1.17E64

#Tendenz:  $0.05 < p \leq 0.20$

Tabelle 11.3: **Logistische Regression bezüglich Durchfall beim 3. Besuch (Tag 26-49 *pn*).**  
kein Durchfall (n=39), mit Durchfall (n=21)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
Wasser 3. Besuch	0.04	3.97E-3 – 0.33
ln(anti-Cryptosporidien-IgG im Kolostrum)	0.03	3.00E-3 – 0.35
BCS	29.50	1.83 – 475.55
ELISA: <i>C. parvum</i> Kuh	19.10	1.51 – 242.35
ELISA: <i>E. coli</i> F5 3. Besuch	23.36	1.47 – 370.87
ln(Neutrophile 3. Besuch)	0.04	2.27E-3 – 0.87
<i>Eimeria spp.</i> 3. Besuch <sup>#</sup>	5.67	0.85 – 37.92

#Tendenz:  $0.05 < p \leq 0.20$

Die in Tabelle 11.1 aufgelisteten Variablen wurden durch das Verfahren der logistischen Regression als relevant für das Auftreten von Durchfall beim Kalb zum Zeitpunkt des 1. Besuchs (Tag 1-4 *pn*) identifiziert.

Signifikante Risikofaktoren waren das Alter der Kuh in Jahren (logistisch transformiert), der Stalltyp und die Eutergesundheit.

Die untersuchten Kühe waren zwischen 2.5 und 18.5 Jahre alt, mit einem Mittelwert von 6.3 Jahren (Median 5.5; SD: 3.3). Je älter die Kuh war, desto grösser war das Risiko, dass ihr Kalb an Durchfall erkrankte.

Der Stalltyp „offen“ barg ein grösseres Risiko für Durchfall in den ersten 4 Lebenstagen als vollständig geschlossene Stallungen.

Ebenso erhöhte eine Eutererkrankung der Kuh das Risiko für Durchfall.

Tendenzen sind zu erkennen bezüglich der gefundenen Anzahl grosser Zellen im Pellet bei der Aufarbeitung des Kolostrums (logarithmisch transformiert) und der Anzahl Neutrophilen Granulozyten (logarithmisch transformiert) im Blut der Kälber. Ersteres scheint ein Risikofaktor zu sein, wobei mit steigender Anzahl grosser Zellen das Risiko für Durchfall zunahm.

Durchschnittlich wurden 6.27E3 Neutrophile Granulozyten pro  $\mu\text{l}$  beim 1. Besuch gezählt, wobei Werte zwischen 1.02E3 und 29.60E3 pro  $\mu\text{l}$  beobachtet wurden (Median: 5.25E3; SD: 4.52E3). Je höher die Anzahl der neutrophilen Granulozyten war, desto kleiner war das Risiko für das Kalb, beim 1. Besuch an Durchfall zu leiden.

Die in Tabelle 11.2 aufgelisteten Variablen wurden durch das Verfahren der logistischen Regression als relevant für das Auftreten von Durchfall beim Kalb zum Zeitpunkt des 2. Besuchs (Tag 7-20 *pn*) identifiziert.

Als signifikante Risikofaktoren fungierten das Ergebnis der modifizierten Ziehl-Neelsen-Färbung beim 2. Besuch und die Menge an verfüttertem Kolostrum bei der ersten Tränke.

War das Ergebnis der modifizierten Ziehl-Neelsen-Färbung positiv, d.h. konnten Cryptosporidien nachgewiesen werden, stieg das Risiko für Durchfall.

Bei der ersten Tränke erhielten die Kälber (exkl. Mutterkuhkälber) zwischen 0.5 und 3.5 Liter Kolostrum. Der Mittelwert betrug 1.8 Liter (Median: 1.5; SD: 0.8). Je mehr Kolostrum die Kälber erhielten, desto grösser war das Risiko, dass sie im Zeitraum des 2. Besuchs Durchfall entwickelten.

Signifikante Schutzfaktoren waren einerseits die Anzahl der neutrophilen Granulozyten im Blut der Kälber beim 1. Besuch (logarithmisch transformiert), wobei eine hohe Zahl an Neutrophilen das Risiko verminderte (Abbildung 7). Andererseits spielte der mittels RID gemessene IgG-Gehalt im Kolostrum eine Rolle. Der durchschnittliche IgG-Gehalt aller Kühe lag bei 111.3 g/l (Median: 110.6; SD: 45.9). Die Werte reichten von 21.0 bis 225.4 g/l. Je höher der Gehalt an IgG im Kolostrum war, desto kleiner war das Risiko für Durchfall zum Zeitpunkt des 2. Besuchs.

Eine Tendenz war bezüglich des Alters des Kalbes zu erkennen (invertiert). Je älter das Kalb beim 2. Besuch war, desto kleiner war das Risiko, dass es an Durchfall litt.

Die in Tabelle 11.3 aufgelisteten Variablen wurden durch das Verfahren der logistischen Regression als relevant für das Auftreten von Durchfall beim Kalb zum Zeitpunkt des 3. Besuchs (Tag 26-49 *pn*) identifiziert.

Falls die Kälber beim 3. Besuch Wasser erhielten, geschah das entweder mittels Automat oder Eimer. Die Tränke mittels Automaten stellte dabei das grösste Risiko dar.

Schutzfaktoren stellten dabei die Extinktionswerte der anti-Cryptosporidien-IgG im Kolostrum (logarithmisch transformiert) und die Zahl der neutrophilen Granulozyten im Blut des Kalbes beim 3. Besuch (logarithmisch transformiert) dar.

Je höher die Extinktionswerte der anti-Cryptosporidien-IgG im Kolostrum, bzw. die Zahl der Neutrophilen beim 3. Besuch war, desto kleiner war das Risiko für die Kälber an Durchfall zu erkranken. Die Zahl der Neutrophilen beim 3. Besuch betrug durchschnittlich 3.92E3 pro  $\mu\text{l}$ , wobei Werte zwischen 0.93E3 und 16.84E3 pro  $\mu\text{l}$  beobachtet wurden (Median: 3.09E3; SD: 2.76E3).

Der Mittelwert des Body Condition Scores der Kühe lag bei 3.7, mit Werten zwischen 3.0 und 5.0 (Median: 3.5; SD: 0.4; Abbildung 8). Mit steigendem BCS der Kühe nahm das Risiko für Durchfall beim 3. Besuch zu.

Konnten im Kot der Kuh mittels ELISA Cryptosporidien nachgewiesen werden, stieg das Risiko für das Kalb, beim 3. Besuch an Durchfall zu leiden.

Der Nachweis von *E. coli* F5 im Kot der Kälber beim 3. Besuch erhöhte das Risiko für Durchfall ebenfalls signifikant.

Tendenziell hatten Kälber, welche zum Zeitpunkt des 3. Besuchs Eimerien-Oozysten ausschieden ein erhöhtes Risiko an Durchfall zu leiden.

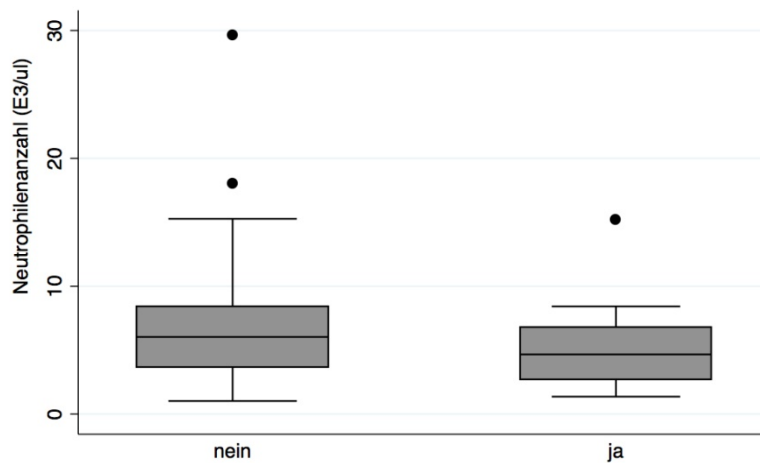


Abbildung 7: Neutrophilenanzahl (E3/μl) beim 1. Besuch aufgeteilt nach Durchfall beim 2. Besuch.

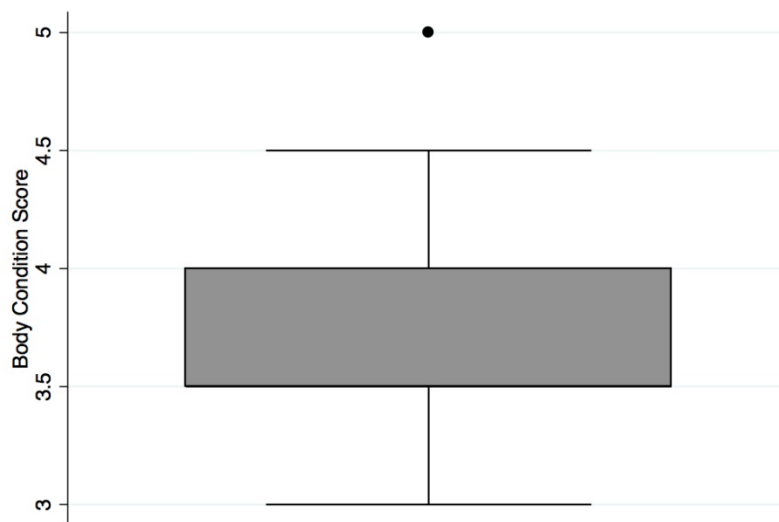


Abbildung 8: Verteilung des BCS<sup>6</sup> der Kühe.

## 5.2.2 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich Ergebnis der modifizierten Ziehl-Neelsen-Färbung zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten

Die relevanten Faktoren bezüglich des Ergebnisses der modifizierten Ziehl-Neelsen-Färbung zu den Besuchszeitpunkten 2 und 3 sind in den Tabellen 12.1 und 12.2 aufgelistet. Zum Zeitpunkt des 1. Besuchs hatte nur ein einziges Kalb ein positives Resultat in der modifizierten Ziehl-Neelsen-Färbung, weshalb für diesen Zeitpunkt keine logistische Regression durchgeführt wurde. Aufgrund der Datenmenge war es nicht möglich eine statistische Analyse der Faktoren, welche zusammenfassend für die ersten eineinhalb Lebensmonaten der Kälber stehen würden, durchzuführen.

Tabelle 12.1: **Logistische Regression bezüglich ZN 2. Besuch (Tag 7-20 pn).**  
negativ (n=32), positiv (n=31)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
ELISA: <i>C. parvum</i> 2. Besuch	1281.94	4.45 – 3.70E5
ln(Neutrophile 1. Besuch) <sup>#</sup>	10.91	0.58 – 204.23
ln(durchschnittl. Alter Kühe) <sup>#</sup>	3.73E11	9.81E-4 – 1.42E26
Erwerbsanteil Vieh >50% <sup>#</sup>	3.00E-5	2.96E-12 – 219.27

# Tendenz: 0.05 < p ≤ 0.20

Tabelle 12.2: **Logistische Regression bezüglich ZN beim 3. Besuch (Tag 26-49 pn).**  
negativ (n=44), positiv (n=16)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
ELISA: <i>C. parvum</i> 2. Besuch	0.04	4.66E-3 – 0.39
Alter Kb 3. Besuch	0.64	0.42 – 0.99
Art der Heufütterung 3. Besuch <sup>#</sup>	4.52	0.83 – 24.68
ELISA: Rotavirus 3. Besuch <sup>#</sup>	8.92	0.56 – 143.12
ln(Anzahl Geburten Kuh) <sup>#</sup>	3.89	0.68 – 22.21
Normoblasten 1. Besuch <sup>#</sup>	10.41	0.48 – 227.55

# Tendenz: 0.05 < p ≤ 0.20

Tabelle 12.1 zeigt die für die positive modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung beim 2. Besuch relevanten Variablen auf, wobei das Ergebnis des ELISAs für *C. parvum* zu diesem Zeitpunkt der einzige signifikante Risikofaktor war. War der ELISA-Test positiv, war das Risiko sehr hoch, dass die Ziehl-Neelsen-Färbung ebenfalls positiv war (Tabelle 13). Der Kappa-Test zwischen diesen zwei Variablen ergab wie zu erwarten eine signifikante Übereinstimmung von 85.7% (Kappa: 0.71).

Tendenzen sind bezüglich der Neutrophilenzahl beim 1. Besuch, dem durchschnittlichen Alter der Kühe auf dem Betrieb und dem über 50%-igen Anteil des Viehs am Gesamterwerb zu erkennen. Somit stieg das Risiko einer positiven ZN-Färbung beim 2. Besuch, wenn die Anzahl neutrophiler Granulozyten im Blut der Kälber beim 1. Besuch hoch war. Ebenso war das Risiko höher bei Kälbern welche auf einem Betrieb waren mit einem hohen durchschnittlichen Alter der Kühe. War der Erwerbsanteil am Vieh über 50% stieg auch das Risiko für eine positive ZN-Färbung.

Tabelle 13: **Kontingenztafel für das Ergebnis des Koproantigen-ELISAs für *C. parvum* beim 2. Besuch und der ZN-Färbung beim 2. Besuch.**

		ELISA <i>C. parvum</i> 2. Besuch		
		nein	ja	
ZN-Färbung 2. Besuch	nein	29	3	32
	ja	6	25	31
		35	28	63

Spezifität: 90.6%, Sensitivität: 80.7%.

Positiv prädiktiver Wert: 89.3%, negativ prädiktiver Wert: 82.9%.



Die für das Ergebnis der modifizierten ZN-Färbung beim 3. Besuch relevanten Faktoren sind in der Tabelle 12.2 aufgelistet.

Dabei zeigten sich zwei signifikante Schutzfaktoren: das Resultat des ELISAs bezüglich *C. parvum* beim 2. Besuch und das Alter des Kalbes beim 3. Besuch. Somit sank das Risiko für eine positive ZN-Färbung beim 3. Besuch, wenn mittels ELISA beim 2. Besuch bereits Cryptosporidien nachgewiesen wurden. Ebenso sank das Risiko für eine positive ZN-Färbung signifikant je älter das Kalb beim 3. Besuch war.

Tendenziell hatten Kälber welche zum Zeitpunkt des 3. Besuchs kein Heu erhielten ein grösseres Risiko für eine positive ZN-Färbung. Der Nachweis von Rotaviren mittels ELISA erhöhte ebenfalls das Risiko, sowie eine hohe Anzahl Geburten der Kuh und eine erhöhte Anzahl Normoblasten beim 1. Besuch.

### 5.2.3 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich Ergebnis des Cryptosporidien-

#### Koproantigen-ELISAs für *C. parvum* zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten

Die durch die logistische Regression als relevant identifizierten Faktoren bezüglich des Ergebnisses des Koproantigen-ELISAs für *C. parvum* zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten sind in den Tabellen 14.1, 14.2 und 14.3 aufgelistet. Aufgrund der Datenmenge war es nicht möglich eine statistische Analyse der Faktoren, welche zusammenfassend für die ersten eineinhalb Lebensmonaten der Kälber stehen würden, d.h. über alle drei Besuche, durchzuführen.

Tabelle 14.1: Logistische Regression bezüglich Koproantigen-ELISA *C. parvum* beim 1. Besuch (Tag 1-4 *pn*).

negativ (n=43), positiv (n=21)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
ln(Basophile 1. Besuch)	4.94	1.13 – 21.64
Kolostrumerstgabe in l	0.22	0.05 – 0.98

Tabelle 14.2: Logistische Regression bezüglich Koproantigen-ELISA *C. parvum* beim 2. Besuch (Tag 7-20 *pn*).

negativ (n=35), positiv (n=28)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
ZN 2. Besuch	79.77	5.84 – 1089.49
Milch nicht steril	105.1	2.19 – 5037.25
ln(Anzahl Kb unter 10 Wochen)	22.09	1.33 – 366.69
CMT 2. Besuch	2.74	1.07 – 7.01

Tabelle 14.3: Logistische Regression bezüglich Koproantigen-ELISA *C. parvum* beim 3. Besuch (Tag 26-49 *pn*).

negativ (n=49), positiv (n=11)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
Zeitpunkt Kolostrumzweitgabe	0.44	0.20 – 0.97
Poikilozytose 3. Besuch	97.80	1.13 – 8482.28
ZN 3. Besuch <sup>#</sup>	64.78	0.76 – 5547.99
Milch nicht steril <sup>#</sup>	0.03	3.55E-4 – 2.38

<sup>#</sup> Tendenz: 0.05 < p ≤ 0.20

In Tabelle 14.1 sind die signifikanten Variablen aufgelistet, welche für das Ergebnis des Koproantigen-ELISAs bezüglich *C. parvum* zum Zeitpunkt des 1. Besuchs von Bedeutung sind.

Je höher die Anzahl basophiler Granulozyten beim 1. Besuch, desto grösser das Risiko für ein positives ELISA-Ergebnis. Je mehr Kolostrum bei der ersten Tränke verabreicht wurde, desto kleiner das Risiko für ein positives ELISA-Ergebnis.

In Tabelle 14.2 sind alle Variablen aufgelistet, welche einen Einfluss auf das Resultat des Koproantigen-ELISAs bezüglich *C. parvum* beim 2. Besuch hatten.

Das Resultat der modifizierten ZN-Färbung war dabei ein signifikanter Risikofaktor. Das heisst, dass das Risiko für ein positives ELISA-Ergebnis stieg, wenn das Ergebnis der modifizierten ZN-Färbung positiv war (Tabelle 13). Der Kappa-Test zwischen diesen zwei Variablen ergab eine signifikante Übereinstimmung von 85.7% (Kappa: 0.71).

War die Milch der Kuh beim 2. Besuch nicht steril bedeutete dies ein signifikant grösseres Risiko für ein positives ELISA-Ergebnis.

Das Risiko für ein positives ELISA-Ergebnis stieg signifikant mit der Anzahl der Kälber auf dem Betrieb an.

Nur geringgradig erhöhte Zellzahlen beim 2. Besuch bedeutete ein signifikant kleineres Risiko für ein positives ELISA-Ergebnis beim 2. Besuch im Vergleich zu stark erhöhten Zellzahlen.

In Tabelle 14.3 befinden sich alle für das Ergebnis des Koproantigen-ELISAs bezüglich *C. parvum* bedeutsamen Variablen zum Zeitpunkt des 3. Besuchs.

Der Zeitpunkt der zweiten Kolostrumtränke war ein signifikanter Schutzfaktor, wobei das Risiko für ein positives Ergebnis abnahm, je später die zweite Kolostrumgabe stattfand. Durchschnittlich bekamen die Kälber die zweite Kolostrumtränke 9 Stunden *post partum* (Median: 10; SD: 3.6).

Wurde im Differentialblutbild des 3. Besuchs bei den Kälbern keine Poikilozytose gefunden, wurde das Risiko für ein positives ELISA-Ergebnis signifikant erhöht.

Tendenziell erhöhte eine positive modifizierte ZN-Färbung das Risiko für ein positives ELISA-Ergebnis (Tabelle 15). Der Kappa-Test zwischen diesen zwei Variablen ergab eine signifikante Übereinstimmung von 78.3% (Kappa: 0.39).

Weiter war eine Tendenz bezüglich der bakteriologischen Milchuntersuchung zum Zeitpunkt des 2. Besuchs zu erkennen. War die Milch beim 2. Besuch nicht steril sank das Risiko eines positiven Ergebnisses für den Koproantigen-ELISA.

**Tabelle 15: Kontingenztabelle für das Ergebnis des Koproantigen-ELISAs für *C. parvum* und der ZN-Färbung beim 3. Besuch.**

		ELISA <i>C. parvum</i> 3. Besuch		
		nein	ja	
ZN-Färbung 3. Besuch	nein	40	4	44
	ja	9	7	16
		49	11	60

Spezifität: 90.9%, Sensitivität: 43.8%.

Positiv prädiktiver Wert: 63.6%, negativ prädiktiver Wert: 81.6%.

## 5.2.4 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich Ergebnis des Koproantigen-ELISAs für

### *C. parvum* bei den Kühen

Die relevanten Faktoren für das Ergebnis des Koproantigen-ELISAs für *C. parvum* bei den Kühen sind in der Tabelle 16 aufgelistet. Die statistischen Ergebnisse beschränken sich für die Kühe auf den Zeitpunkt des 1. Besuchs, d.h. 1 bis 4 Tage *pp*, da Kotproben nur zu diesem Zeitpunkt genommen wurden.

Tabelle 16: **Logistische Regression bezüglich Koproantigen-ELISA *C. parvum* bei der Kuh.**  
negativ (n=53), positiv (n=11)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
Stalltyp	51.27	3.60 – 730.43
ln(Betriebsfläche)	9.88E-3	3.13E-4 – 0.31
Keine Phosphorfütterung <i>ap</i>	0.06	4.56E-3 – 0.77
Anzahl im Stall tätige Personen <sup>#</sup>	0.32	0.08 – 1.31

<sup>#</sup> Tendenz:  $0.05 < p \leq 0.20$

Dabei bargen Offenställe ein signifikant grösseres Risiko, dass die Kuh Cryptosporidien ausscheidet im Vergleich zu geschlossenen Stallungen. Weitere, signifikante Variablen waren die Betriebsfläche und die Fütterung von Phosphor *ap*. Je grösser die Betriebsfläche, desto kleiner war das Risiko für die Cryptosporidien-Ausscheidung der Kuh. Ausserdem wurde das Risiko ebenfalls gesenkt, wenn die Kuh kein Phosphor vor der Geburt erhalten hatte.

Tendenziell senkte eine grössere Anzahl Personen welche im Stall tätig waren das Risiko für ein positives ELISA-Ergebnis.

### 5.2.5 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich Cryptosporidien-Ausscheidung zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten

Als Cryptosporidien ausscheidende Kälber galten solche, welche in der modifizierten Ziehl-Neelsen-Färbung und/oder im Koproantigen-ELISA ein positives Ergebnis hatten.

Die Tabellen 17.1, 17.2 und 17.3 listen die bezüglich der Cryptosporidien-Ausscheidung relevanten Faktoren zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten auf. Aufgrund der Datenmenge war es nicht möglich eine statistische Analyse der Faktoren, welche zusammenfassend für die ersten eineinhalb Lebensmonaten der Kälber stehen würden, d.h. über alle drei Besuche, durchzuführen.

**Tabelle 17.1: Logistische Regression bezüglich Cryptosporidien-Ausscheidung beim 1. Besuch (Tag 1-4 *pn*).**

nein (n=42), ja (n=22)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
ln(Alter Kuh in Jahren)	4.76	1.09 – 20.76
Kolostrumerstgabe in l <sup>#</sup>	0.49	0.18 – 1.31

# Tendenz: 0.05 < p ≤ 0.20

**Tabelle 17.2: Logistische Regression bezüglich Cryptosporidien-Ausscheidung beim 2. Besuch (Tag 7-20 *pn*).**

nein (n=29), ja (n=34)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
Erwerbsanteil Vieh über 50%	6.21E-3	2.63E-4 – 0.15
ln(durchschnittl. Alter Kühe)	1593.96	13.44 – 1.89E5
Stalltyp	19.90	1.99 – 199.09
Alter Kb 1. Besuch	0.19	0.04 – 0.92
Schleimhautfarbe 2. Besuch <sup>#</sup>	5.27	0.65 – 42.85
ln(Neutrophile 2. Besuch) <sup>#</sup>	4.35	0.50 – 37.63

# Tendenz: 0.05 < p ≤ 0.20

**Tabelle 17.3: Logistische Regression bezüglich Cryptosporidien-Ausscheidung beim 3. Besuch (Tag 26-49 *pn*).**

nein (n=40), ja (n=20)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
Alter Kb 3. Besuch	0.44	0.24 – 0.81
Art der Kolostrumzubereitung	0.10	0.02 – 0.64
Heu 3. Besuch	13.77	1.65 – 114.79
ln(Anzahl Geburten Kuh)	34.21	1.87 – 626.62
Körpertemperatur 3. Besuch	7.61E-3	1.30E-4 – 0.44
Kolostrum nicht steril	0.01	3.76E-4 – 0.52
Keine BT-Impfung 2010	102.78	1.94 – 5439.77
CA 2. Besuch	0.05	2.79E-3 – 0.89
AZ 2. Besuch	6.47E-4	4.88E-7 – 0.86

Tabelle 17.1 zeigt die für die Cryptosporidien-Ausscheidung relevanten Variablen zum Zeitpunkt des 1. Besuchs.

Kälber welche von älteren Kühen stammen, hatten ein signifikant höheres Risiko Cryptosporidien auszuschcheiden beim 1. Besuch. Die Kühe waren zwischen 2.5 und 18.5 Jahre alt, mit einem Mittelwert von 6.3 Jahren (Median: 5.5; SD: 3.3).

Tendenziell war zu beobachten, dass Kälber welche bei der ersten Tränke viel Kolostrum erhalten hatten, ein kleineres Risiko hatten Cryptosporidien zum Zeitpunkt des 1. Besuchs auszuschcheiden. Die

Kälber erhielten zwischen 0.5 und 3.5 Liter Kolostrum bei der ersten Tränke, wobei durchschnittlich 1.8 Liter getränkt wurde (Median: 1.5; SD: 0.8).

In Tabelle 17.2 sind Variablen aufgelistet, welche für die Cryptosporidien-Ausscheidung zum Zeitpunkt des 2. Besuchs von Bedeutung sind.

Der Anteil vom mit dem Vieh erzielten Einkommen bezüglich des Gesamterwerbs spielte dabei eine signifikante Rolle. War der durch das Vieh erzielte Erwerb kleiner als 50% des Gesamteinkommens, war das Risiko für die Ausscheidung von Cryptosporidien vermindert.

Je älter die Kühe auf dem Betrieb waren, desto grösser war das Risiko, dass das Kalb beim 2. Besuch Cryptosporidien ausscheidet.

Offenställe bargen ein signifikant grösseres Risiko für das Kalb Cryptosporidien auszuschcheiden. Je älter das Kalb zum Zeitpunkt des 1. Besuchs war, desto kleiner war das Risiko, dass es beim 2. Besuch Cryptosporidien ausscheidet.

Eine Tendenz ist bezüglich der Schleimhautfarbe und dem Risiko Cryptosporidien auszuschcheiden zu erkennen: Je blasser die Schleimhaut beim 2. Besuch, desto kleiner das Risiko. Weiter war eine Tendenz bezüglich der Anzahl neutrophiler Granulozyten zu beobachten: Je höher die Anzahl Neutrophile beim 2. Besuch, desto grösser das Risiko.

Tabelle 17.3 zeigt die für die Cryptosporidien-Ausscheidung zum Zeitpunkt des 3. Besuchs signifikanten Variablen auf.

Beim 3. Besuch waren die Kälber zwischen 26 und 49 Tage *pn*, mit einem Mittelwert von 34 Tage (Median: 34; SD: 4). Je älter das Kalb beim 3. Besuch war, desto kleiner war das Risiko, dass es Cryptosporidien ausscheidet.

Die Zubereitung von Kolostrum in der Mikrowelle oder der Pfanne barg ein signifikant grösseres Risiko als wenn das Kolostrum aufgetaut wurde. Ebenso wurde das Risiko für die Cryptosporidien-Ausscheidung zum Zeitpunkt des 3. Besuchs erhöht, wenn dem Kalb kein Heu gefüttert wurde.

Je höher die Anzahl Geburten der Kuh, desto grösser war auch das Risiko, dass das Kalb Cryptosporidien beim 3. Besuch ausgeschieden hat.

Die durchschnittliche Körpertemperatur der Kälber betrug beim 3. Besuch 38.5°C, wobei Werte zwischen 37.2 und 40.0°C beobachtet wurden (Median: 38.5; SD: 0.5). Je höher die Körpertemperatur war, desto kleiner war das Risiko, dass das Kalb Cryptosporidien ausgeschieden hat.

War das Kolostrum bei der bakteriologischen Untersuchung nicht steril, verminderte dies das Risiko für die Cryptosporidien-Ausscheidung des Kalbes beim 3. Besuch signifikant.

Wurde auf dem Betrieb im Jahre 2010 (noch) keine Bluetongue-Impfung durchgeführt als der Besuch stattfand erhöhte dies das Risiko signifikant.

Kälber welche schon beim 2. Besuch Cryptosporidien ausgeschieden haben, hatten beim 3. Besuch ein signifikant kleineres Risiko.

War der Allgemeinzustand zum Zeitpunkt des 2. Besuchs gestört war das Risiko für die Ausscheidung von Cryptosporidien beim 3. Besuch kleiner.

## 5.2.6 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich Durchfall mit Cryptosporidien-

### Ausscheidung zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten

Als Cryptosporidien ausscheidende Kälber galten solche, welche in der modifizierten Ziehl-Neelsen-Färbung und/oder im Koproantigen-ELISA ein positives Ergebnis hatten.

Die Tabellen 18.1, 18.2 und 18.3 listen die bezüglich des Durchfalls mit Cryptosporidien-Ausscheidung relevanten Faktoren zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten auf. Aufgrund der Datenmenge war es nicht möglich eine statistische Analyse der Faktoren, welche zusammenfassend für die ersten eineinhalb Lebensmonaten der Kälber stehen würden, d.h. über alle drei Besuche, durchzuführen.

**Tabelle 18.1: Logistische Regression bezüglich Durchfall mit Cryptosporidien-Ausscheidung beim 1. Besuch (Tag 1-4 *pn*).**

nein (n=59), ja (n=5)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
Milchmenge/Fütt 1. Besuch <sup>#</sup>	0.14	0.02 – 1.12

<sup>#</sup> Tendenz:  $0.05 < p \leq 0.20$

**Tabelle 18.2: Logistische Regression bezüglich Durchfall mit Cryptosporidien-Ausscheidung beim 2. Besuch (Tag 7-20 *pn*).**

nein (n=47), ja (n=16)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
ln(Basophile 1. Besuch)	10.98	1.64 – 73.59
Körpertemperatur 2. Besuch	13.36	1.26 – 141.45
Lymphozyten 1. Besuch <sup>#</sup>	0.32	0.10 – 1.03
Normoblasten 1. Besuch <sup>#</sup>	23.29	0.89 – 607.51
Kein Zukauf von Tieren <sup>#</sup>	0.17	0.02 – 1.22
Keine Therapie bis 2. Besuch <sup>#</sup>	0.20	0.02 – 1.63

<sup>#</sup> Tendenz:  $0.05 < p \leq 0.20$

**Tabelle 18.3: Logistische Regression bezüglich Durchfall mit Cryptosporidien-Ausscheidung beim 3. Besuch (Tag 26-49 *pn*).**

nein (n=55), ja (n=5)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
Körpertemperatur 1. Besuch	0.02	5.27E-4 – 0.80
Art der Heufütterung 3. Besuch <sup>#</sup>	8.62	0.81 – 91.58

<sup>#</sup> Tendenz:  $0.05 < p \leq 0.20$

In Tabelle 18.1 ist die für Durchfall mit Ausscheidung von Cryptosporidien relevante Variable aufgelistet.

Es handelt sich dabei um eine Tendenz bezüglich getränkter Milchmenge pro Fütterung des Kalbes beim 1. Besuch. Den Kälbern wurde zu diesem Zeitpunkt zwischen 0.5 und 3.5 Liter Milch pro Fütterung verabreicht, wobei durchschnittlich 2.1 Liter getränkt wurden (Median: 2.0; SD: 0.7).

Je mehr Milch pro Fütterung gegeben wurde, desto kleiner war das Risiko, dass das Kalb Cryptosporidien-bedingten Durchfall hatte.

Tabelle 18.2 beinhaltet die für den Cryptosporidien-bedingten Durchfall beim 2. Besuch wichtigen Variablen.

Die mittels Differentialblutbild gezählte Anzahl basophiler Granulozyten beim 1. Besuch stellte ein signifikanter Risikofaktor dar.

Die durchschnittliche Körpertemperatur beim 2. Besuch betrug 38.6°C, wobei Werte zwischen 37.4 und 39.9°C beobachtet wurden (Median: 38.6; SD: 0.5). Mit dem Anstieg der Körpertemperatur stieg auch das Risiko von Durchfall mit Ausscheidung von Cryptosporidien signifikant.

Eine Tendenz war bezüglich der Anzahl mittels Differentialblutbild gezählten Lymphozyten beim 1. Besuch zu erkennen. Je höher die Anzahl Lymphozyten, desto kleiner das Risiko für Cryptosporidien-bedingten Durchfall beim 2. Besuch.

Umgekehrt verhielt es sich mit den Normoblasten. Je höher die Anzahl Normoblasten beim 1. Besuch, desto kleiner das tendenzielle Risiko.

Wurden auf dem Betrieb Tiere zugekauft, stieg das Risiko für die Kälber zum Zeitpunkt des 2. Besuchs an Durchfall mit Ausscheidung von Cryptosporidien zu leiden.

Bekamen die Kälber zwischen dem 1. und 2. Besuch eine beliebige Therapie erhöhte dies das Risiko für Durchfall mit Cryptosporidien-Ausscheidung.

In Tabelle 18.3 sind die Variablen aufgelistet, welche für den Cryptosporidien-bedingten Durchfall zum Zeitpunkt des 3. Besuchs von Bedeutung sind.

Kälber, welche beim 3. Besuch an Durchfall leiden und Cryptosporidien ausscheiden hatten beim 1. Besuch eine signifikant niedrigere Körpertemperatur. Die durchschnittliche Körpertemperatur betrug zu diesem Zeitpunkt 38.6°C, wobei Werte zwischen 37.4 und 39.4°C beobachtet wurden (Median: 38.7; SD: 0.5).

Wurde den Kälbern beim 3. Besuch noch kein Heu gefüttert stieg das Risiko für Durchfall mit Ausscheidung von Cryptosporidien tendenziell an.



## 5.2.7 Risiko- und Schutzfaktoren bezüglich asymptomatischer Cryptosporidien-

### Ausscheidung zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten

Als Cryptosporidien ausscheidende Kälber galten solche, welche in der modifizierten Ziehl-Neelsen-Färbung und/oder im Koproantigen-ELISA ein positives Ergebnis hatten.

Die Tabellen 19.1, 19.2 und 19.3 listen die bezüglich der asymptomatischen Cryptosporidien-Ausscheidung relevanten Faktoren, zu den verschiedenen Besuchszeitpunkten, auf. Aufgrund der Datenmenge war es nicht möglich, eine statistische Analyse der Faktoren, welche zusammenfassend für die ersten eineinhalb Lebensmonaten der Kälber stehen würden, d.h. über alle drei Besuche, durchzuführen.

**Tabelle 19.1: Logistische Regression bezüglich asymptomatischer Cryptosporidien-Ausscheidung beim 1. Besuch (Tag 1-4 *pn*).**

nein (n=47), ja (n=17)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
ln(durchschnittl. ML Kuh) <sup>#</sup>	0.04	7.63E-4 – 1.93
Anzahl Entmistungen/Tag <sup>#</sup>	0.26	0.04 – 1.88

<sup>#</sup> Tendenz: 0.05 < p ≤ 0.20

**Tabelle 19.2: Logistische Regression bezüglich asymptomatischer Cryptosporidien-Ausscheidung beim 2. Besuch (Tag 7-20 *pn*).**

nein (n=45), ja (n=18)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
Stalltyp	21.66	1.99 – 235.68
IgG-Gehalt im Kolostrum	1.06	1.01 – 1.11
Milchmenge/Fütt 1. Besuch	0.09	0.01 – 0.75

**Tabelle 19.3: Logistische Regression bezüglich asymptomatischer Cryptosporidien-Ausscheidung beim 3. Besuch (Tag 26-49 *pn*).**

nein (n=45), ja (n=15)

Variable	Odds Ratio	CI (95%)
Art der Kolostrumzubereitung	0.24	0.08 – 0.72
Keine Grasfütterung 3. Besuch	0.03	1.56E-3 – 0.55
Normoblasten 1. Besuch	53.48	1.81 – 1582.28
Alter Kb 3. Besuch	0.61	0.40 – 0.93
Kolostrum nicht steril <sup>#</sup>	0.04	1.69E-3 – 1.07
Durchfall beim 2. Besuch <sup>#</sup>	0.12	9.50E-3 – 1.62

<sup>#</sup>Tendenz: 0.050 > p ≤ 0.20

Tabelle 19.1 enthält die für die asymptomatische Cryptosporidien-Ausscheidung zum Zeitpunkt des 1. Besuchs relevanten Variablen.

Tendenziell hatten Kälber, dessen Mütter eine hohe Milchleistung in der vorhergehenden Laktation hatten ein kleineres Risiko Cryptosporidien asymptomatisch auszuschcheiden. Die durchschnittliche Milchleistung der Kühe betrug 6'901 Liter, wobei Werte zwischen 4'618 und 10'000 Liter gemessen wurden (Median: 6'500; SD: 1'261).

Ebenso war eine Tendenz bezüglich der Anzahl der Entmistungen pro Tag auf dem Betrieb zu beobachten. Der Mittelwert betrug 2.1 Entmistungen/Tag, wobei zwischen 0.0 und 3.5 Mal pro Tag entmistet wurde (Median: 2.0; SD: 0.7). Je mehr Entmistungen pro Tag durchgeführt wurden, desto kleiner war das Risiko, dass die Kälber asymptomatisch Cryptosporidien beim 1. Besuch ausgeschieden haben.

Tabelle 19.2 führt die für die asymptomatische Ausscheidung von Cryptosporidien zum Zeitpunkt des 2. Besuchs relevanten Variablen auf.

Offenställe stellten dabei ein signifikant grösseres Risiko für die asymptomatische Cryptosporidien-Ausscheidung dar als geschlossene Stallungen.

Der durchschnittlich mittels RID gemessene Gehalt an IgG im Kolostrum betrug 111.3 g/l, wobei Werte zwischen 21.0 und 225.4 g/l gemessen wurden (Median: 110.6; SD: 45.9). Je höher der Gehalt an IgG im Kolostrum, desto grösser das Risiko, dass das Kalb Cryptosporidien zum Zeitpunkt des 2. Besuchs asymptomatisch ausscheidet.

Je höher die Milchmenge pro Fütterung zum Zeitpunkt des 1. Besuchs, desto kleiner das Risiko, dass das Kalb beim 2. Besuch Cryptosporidien asymptomatisch ausscheidet. Der Mittelwert der Milchmenge pro Fütterung betrug beim 2. Besuch 2.1 Liter, wobei zwischen 0.5 und 3.5 Liter pro Fütterung getränkt wurden (Median: 2.0; SD: 0.7).

In Tabelle 19.3 sind die für die asymptomatische Cryptosporidien-Ausscheidung zum Zeitpunkt des 3. Besuchs relevanten Variablen aufgelistet.

Die Art der Kolostrumzubereitung spielt dabei eine signifikante Rolle. Wurde auf dem Betrieb eingefrorenes Kolostrum in der Mikrowelle oder in der Pfanne zubereitet barg dies ein signifikant grösseres Risiko als die Zubereitung im Wasserbad oder das Auftauen.

Wurde den Kälbern beim 3. Besuch noch kein Gras verfüttert, war das Risiko grösser, dass sie asymptomatisch Cryptosporidien ausscheiden.

Die Erhöhung der Normoblasten beim 1. Besuch steigerte das Risiko für die asymptomatische Cryptosporidien-Ausscheidung beim 3. Besuch signifikant.

Je älter das Kalb beim 3. Besuch war, desto kleiner war das Risiko, dass es asymptomatisch Cryptosporidien ausscheidet. Beim 3. Besuch waren die Kälber zwischen 26 und 49 Tage alt, mit einem Mittelwert von 34 Tagen (Median: 34; SD: 4).

War die bakteriologische Untersuchung des Kolostrums negativ, steigerte dies das Risiko für die asymptomatische Ausscheidung von Cryptosporidien beim 3. Besuch tendenziell.

Litt das Kalb bereits beim 2. Besuch an Durchfall, sank das Risiko für die asymptomatische Cryptosporidien-Ausscheidung beim 3. Besuch tendenziell.



## 6. Diskussion

Die vorliegende Untersuchung hatte zum Ziel, einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Cryptosporidien und immunologischen, sowie epidemiologischen Faktoren herzustellen.

Es wurden im Einzugsgebiet der Ambulanz des Tierspitals Zürich Betriebe mit bekannten Problemen bezüglich Cryptosporidien-Durchfälle und Kontroll-Betriebe ohne solche Probleme in die Studie mit einbezogen. Somit sollte ein Überblick über die Situation im Einzugsgebiet der Ambulanz des Tierspitals Zürichs gegeben, sowie eine Basis für weitere epidemiologische und molekularbiologische Untersuchungen anhand der gewonnenen Daten und des gewonnenen Probematerials geschaffen werden. Aufgrund der kleinen Anzahl untersuchter Tiere und der regionalen Beschränkung der in die Studie mit einbezogenen Betriebe, lassen sich die Resultate nicht ohne Weiteres auf andere Teile der Schweiz oder auf das Ausland übertragen. Nach dem Wissen der Autorin handelt es sich aber um die erste Studie dieser Art bezüglich Cryptosporidien in der Schweiz.

### 6.1 Deskriptive Statistik

#### 6.1.1 Kühe allgemein

Der IgG-Gehalt im Blutserum der Kühe lag zwischen 8.7 und 40.8 g/l, mit einem im Referenzbereich liegenden Mittelwert von 22.6 (Dirksen et al., 2006). Der Mittelwert des IgG-Gehaltes des Kolostrums lag bei 111.3 g/l, wobei Werte zwischen 21.0 und 225.4 gemessen wurden. Eine solch breite Streuung der Messungen wurde schon in einer anderen Studie beobachtet, wobei Unterschiede sowohl zwischen den Kühen einer Herde, wie auch zwischen den verschiedenen Rassen zu finden waren (Müller und Ellinger, 1981). Der allgemein empfohlene Mindestwert für Kolostrum ausreichender Qualität beträgt 50 g/l. Nur 6.4% der Kühe lagen in dieser Studie unter diesem Wert. Ebenso ist der gemessene Mittelwert von 111.3 g/l im Vergleich mehr als doppelt so hoch (Gulliksen et al., 2008; Pritchett et al., 1991). Dies reflektiert das konsequente Abmelken des Erstkolostrums durch die Landwirte und die erfolgreiche Informationsarbeit durch das Tierspital Zürich, bezüglich der Wichtigkeit des raschen Abmelkens des Kolostrums für die ausreichende Versorgung der Kälber.

Um allfällige Einflüsse spezifischer Mastitis-Erreger auf die Cryptosporidien-Ausscheidung und den Durchfall bei den Kälbern festzustellen, wurden die Kolostrum- und Milchproben bakteriologisch mittels Kultur untersucht. Die grosse Anzahl an Kolostrum- und Milchproben, welche mindestens unspezifische Mischkulturen aufwiesen, ist höchstwahrscheinlich auf Kontamination bei der Probennahme zurückzuführen. Der Einfluss von spezifischen Mastitis-Erregern kann nicht abgeschätzt werden, da die Möglichkeit besteht, dass ihr Wachstum in den Kulturen durch Umweltkeime beeinflusst wurde.

Auf die Resultate der Differentialblutbilder wird an dieser Stelle nicht weiter eingegangen, da kein Einfluss auf die Ausscheidung von Enteropathogenen bei den Kühen oder ihren Kälbern festgestellt werden konnte.

Die Prävalenz von Cryptosporidien-Oozysten 1-4 Tage *pp* im Kot der Kühe lag bei 15.9%. In den Vereinigten Staaten und in Schweden wurden bei Kühen um den Geburtszeitpunkt Prävalenzen von 0.0%, bzw. 5.6% ermittelt (Atwill et al., 1998; Silverlas et al., 2009). Vergleichsweise ist die in dieser Studie gemessene Prävalenz hoch, wobei bedacht werden muss, dass Cryptosporidien von Kühen nicht kontinuierlich ausgeschieden werden. Unabhängig vom Geburtszeitpunkt wurden bei adulten Kühen aber schon Werte bis 71.8% gemessen (Lorenzo Lorenzo et al., 1993). Aufgrund des Ausscheidungsmusters, der meist geringen Menge an ausgeschiedenen Oozysten durch die Kühe und der einmaligen Beprobung liegt die hier gemessene Prävalenz höchstwahrscheinlich unter der wahren Prävalenz. Die Bedeutung der Kühe als direkte Überträger des Parasiten auf neonatale Kälber ist allerdings schwierig abzuschätzen. In der Literatur wurde dies bereits kontrovers diskutiert und bleibt bis zum jetzigen Zeitpunkt unklar (Atwill et al., 1998; Atwill et al., 2003; Castro-Hermida et al., 2007; Faubert und Litvinsky, 2000). In der vorliegenden Studie hatte die Ausscheidung von Cryptosporidien-Oozysten durch das Muttertier keinen direkten Einfluss auf die Ausscheidung ihres Kalbes im Untersuchungszeitraum. Grund dafür könnte sein, dass es sich bei den nachgewiesenen Cryptosporidien nicht um *C. parvum*, sondern anderen Cryptosporidien-Spezies handelt, welche für

Kälber weniger oder nicht infektiös wären. In der Literatur ist bekannt, dass die betroffene Altersgruppe je nach Cryptosporidien-Spezies variieren kann (Fayer et al., 2007; Fayer et al., 2005; Lindsay et al., 2000; Santin et al., 2004).

Es schieden 30.2% der Kühe *E. coli* F5 aus. Laut Hersteller beträgt die Spezifität, bzw. Sensitivität des Testsystems für *E. coli* F5 100%, bzw. 90.9% verglichen mit PCR. Dies sollte falsch positive Tiere aufgrund von Kreuzreaktionen mit anderen *E. coli*-Stämmen ausschliessen. Nach dem Wissen der Autorin existiert weder eine Studie betreffend Vorkommen von *E. coli* F5 bei adulten Kühen und deren Bedeutung als Überträger auf neugeborene Kälber, noch eine unabhängige Validierung des ELISA-Testkits. Tatsache ist, dass die Muttertiere aller Kälber, welche zum Zeitpunkt des 3. Besuchs *E. coli* F5 ausgeschieden haben, ebenfalls Ausscheider waren. Ob es sich dabei um die gleichen Stämme handelte, welche vom Muttertier auf das Kalb übertragen wurden, hätte mittels PCR überprüft werden können, stand jedoch nicht im Zentrum dieser Arbeit und wurde deshalb nicht durchgeführt.

Für MDS-Eier betrug die Prävalenz 52.4% bei den Kühen. In den Niederlanden wurde bei adulten Kühen eine Prävalenz von 88.5% gefunden, wobei ein sensitiveres Testverfahren für den Nachweis verwendet wurde (Borgsteede et al., 2000). In dieser Studie wurde bei den Kühen eine Prävalenz von 20.6% für *Eimeria spp.*-Oozysten gefunden. In Deutschland wurden je nach Untersuchungsgebiet Prävalenzen zwischen 7.0% und 30.0% gefunden, wobei regional unabhängig auch ein Anstieg um den Geburtszeitpunkt festzustellen war (Faber et al., 2002). Die Autoren spekulierten, dass dieser Befund entweder auf die Aktivierung von inaktiven Stadien des Parasiten zurückzuführen sei und/oder dass andere Faktoren, wie die Immunsuppression während der Trächtigkeit oder der Stress der Geburt, zu einem Anstieg führten.

### 6.1.2 Kälber allgemein

Der Mittelwert des IgG-Gehaltes im Blutserum der Kälber betrug beim 1., 2., bzw. 3. Besuch 27.4 g/l, 19.7 g/l, bzw. 14.3 g/l. Ähnliche Werte und einen ähnlichen Verlauf wurden auch schon in anderen Studien beobachtet (Hässig et al., 2007). Die entsprechenden Werte waren 24.0 g/l, ca. 18.0 g/l, bzw. ca. 14.0 g/l. Der Abfall des IgG-Gehaltes im Blut der Kälber mit zunehmendem Alter ist auf den Verbrauch und Abbau maternaler Antikörper zurückzuführen. Kälber von Kühen mit einem hohen IgG-Gehalt im Kolostrum hatten tendenziell einen höheren IgG-Wert im Blutserum beim 1. Besuch. Dies wurde in der Literatur schon früher beschrieben (Morin et al., 1997; Stott und Fellah, 1983).

Auf die Resultate der Differentialblutbilder wird an dieser Stelle nicht weiter eingegangen, da kein Einfluss auf die Ausscheidung von Enteropathogenen bei den Kälbern festgestellt werden konnte.

Es zeigte sich, dass mit zunehmendem Alter der Kälber sowohl die Anzahl Kälber zunahm welche Enteropathogene ausschieden, wie auch die Anzahl der Enteropathogene, die pro Kalb ausgeschieden wurden. Die Zunahme der verschiedenen ausgeschiedenen Enteropathogene mit dem Alter widerspricht einer Studie aus Spanien, bei welcher eine signifikante Abnahme der Mischinfektionen mit dem Alter der Kälber festgestellt wurde (de la Fuente et al., 1999). Die Autoren begründeten dies mit der Abnahme der Anfälligkeit für Enteropathogene. Wurden Kälber aber nur einmalig untersucht, konnte festgestellt werden, dass Infektionen mit mehr als einem Enteropathogen bei jungen Kälbern häufig waren (Izzo et al., 2011; Snodgrass et al., 1986; Uhde et al., 2008). Die Untersuchungsbedingungen unterschieden sich aber zwischen den einzelnen Studien bezüglich gesuchter Pathogene und Nachweisverfahren, weshalb die Vergleiche mit Vorsicht betrachtet werden müssen (Gulliksen et al., 2009; Izzo et al., 2011; Trotz-Williams et al., 2007). Ausserdem wurde häufiger nach einem Zusammenhang zwischen Enteropathogen-Anzahl und Durchfall-Symptomatik gesucht. In dieser Studie konnte diesbezüglich kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Allerdings kann für den Zeitpunkt des 1. Besuchs keine Aussage gemacht werden, da nur drei Kälber mehr als ein Enteropathogen ausgeschieden haben.

Die Prävalenz von Cryptosporidien variierte bei den Kälbern zwischen den einzelnen Besuchszeitpunkten. Zum Zeitpunkt des 1. Besuchs (1-4 Tage *pn*) schieden 34.4% aller Kälber Cryptosporidien aus, zum Zeitpunkt des 2. Besuchs (7-20 Tage *pn*) waren es 54.0% und zum Zeitpunkt des 3. Besuchs (26-49 Tage *pn*) 33.3%. Die Ausscheidung des Parasiten erfolgte wellenförmig mit einem Höchstwert im Zeitraum der zweiten Lebenswoche (Bartels et al., 2010; de la Fuente et al., 1999; Quilez et al., 1996; Santin et al., 2008; Santin et al., 2004). Vergleiche mit Prävalenzen bei bis 3-wöchigen Kälbern in der Schweiz zeigen ähnliche Werte (Luginbühl et al.,

2005; Uhde et al., 2008). In dieser Studie betrug die Prävalenz von Cryptosporidien zum Zeitpunkt des 2. Besuchs bei gesunden, bzw. an Durchfall erkrankten Kälbern 47.4%, bzw. 64.0%. Luginbühl et al. fanden 2005 bei gesunden, bzw. an Durchfall erkrankten Kälbern eine Prävalenz von 21.0%, bzw. 43.0%. Uhde et al. untersuchten 2008 an Durchfall erkrankten Kälbern, wobei 55.0% aller Kälber Cryptosporidien ausgeschieden haben.

Wie auch die Cryptosporidien-Ausscheidung, verlief das Auftreten von Durchfall wellenförmig mit einer Höchstzahl an erkrankten Kälbern im Zeitraum der zweiten bis dritten Lebenswoche (Bendali et al., 1999). Zum Zeitpunkt des 1. Besuchs litten 22.7% der Kälber, welche Cryptosporidien ausgeschieden haben an Durchfall, beim 2. Besuch waren es 47.1% und im Zeitraum des 3. Besuchs 25.0%. Zwischen dem Auftreten von Durchfall und der Ausscheidung von Cryptosporidien konnte kein signifikanter Zusammenhang gefunden werden. In der Literatur finden sich bezüglich Cryptosporidien und Durchfall widersprüchliche Aussagen (Bjorkman et al., 2003; Gulliksen et al., 2009; Quilez et al., 1996; Trotz-Williams et al., 2007). Da bei allen Untersuchungen jeweils eine einmalige Beprobung in einem definierten Zeitfenster stattfand, besteht die Möglichkeit, dass der Durchfall übersehen wurde, da die Symptomatik vor oder nach dem Besuch auftreten kann (Fayer et al., 1998). Zudem sollte der Nachweis von Cryptosporidien-Oozysten zum Zeitpunkt des 1. Besuchs, d.h. 1 – 4 Tage *pn*, kritisch betrachtet werden. Eigenen Beobachtungen zufolge, konnten Cryptosporidien-Oozysten bereits 24 Stunden nach experimenteller Infektion mit einer hohen Oozysten-Dosis, im Kot nachgewiesen werden (C. Lippuner, nicht publiziert). Dabei handelte es sich mit grösster Wahrscheinlichkeit um Darm-Passagen. Ob es sich bei den zum Zeitpunkt des 1. Besuchs nachgewiesenen Oozysten um ebensolche Darmpassagen oder neue, im Kälberdarm entstandene Oozysten handelt, lässt sich nicht abschliessend beurteilen, zumal in der Literatur der Nachweis von Oozysten bei natürlicher Infektion ab dem dritten Lebenstag beschrieben wurde (Lopez et al., 1988).

Beim 1. Besuch wurden als häufigste Enteropathogene Cryptosporidien nachgewiesen. Die Prävalenz der anderen Enteropathogene war dabei geringer als im nationalen und internationalen Vergleich (Bartels et al., 2010; Bendali et al., 1999; Luginbühl et al., 2005; Uhde et al., 2008). Beim 2. Besuch wurden am häufigsten Cryptosporidien und Rotaviren im Kot der Kälber festgestellt, was Ergebnissen aus anderen Studien entspricht. Je nach Studie und Land haben Cryptosporidien oder Rotaviren die höhere Prävalenz (de la Fuente et al., 1999; Izzo et al., 2011; Joachim et al., 2003; Luginbühl et al., 2005; Uhde et al., 2008). Beim 3. Besuch wurden unter anderem in absteigender Häufigkeit *Eimeria*-Oozysten, *Giardia*-Zysten und Cryptosporidien-Oozysten gefunden. Die immer noch relativ hohe Prävalenz von Cryptosporidien-Oozysten zum Zeitpunkt des 3. Besuchs hatte keinen signifikanten Zusammenhang mit dem Auftreten von Durchfall zu diesem Zeitpunkt (Quilez et al., 1996). Da keine Genotypisierung der Cryptosporidien vorgenommen wurde und nicht alle Spezies alle Altersgruppen zu infizieren scheinen ist die Bedeutung dieser Ausscheider für die Übertragung und Persistenz der Infektion in einer Herde unklar (Fayer et al., 2005; Lindsay et al., 2000; Santin et al., 2004). Die Prävalenz von Eimerien betrug 36.7%, wobei die Oozysten nicht weiter charakterisiert wurden. In der Schweiz wurden bei unter 30 Tage alten Kälbern eine Prävalenz von 36.0% für *E. bovis* und 19.0% für *E. zuernii* gemessen (Lentze et al., 1999). Es bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Eimerien-Ausscheidung und dem Auftreten von Durchfall zum Zeitpunkt des 3. Besuchs. Eimerien werden bei etwa 1-monatigen Kälbern als eine der häufigsten infektiösen Durchfallursachen angesehen, wobei nicht alle Arten gleich pathogen sind (Lentze et al., 1999). *Giardia*-Zysten wurden bei 35.0% der Kälber nachgewiesen. Bereits in anderen Studien wurde eine zum Teil sehr hohe Prävalanz für *Giardia*-Zysten bei Kälbern festgestellt (Appelbee et al., 2003; Bjorkman et al., 2003; O'Handley et al., 2000; Quilez et al., 1996). Es bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Ausscheidung von *Giardia*-Zysten und dem Auftreten von Durchfall beim 3. Besuch. Dieser Befund korreliert mit früheren Studien (Bjorkman et al., 2003; Quilez et al., 1996). Die Bedeutung des Parasiten für junge Kälber bleibt unklar.

## 6.2 Statistische Modelle

Im Vorfeld der statistischen Untersuchungen wurden mehrere Modelle evaluiert, wie die Varianzanalyse, „analysis of variance“, ANOVA, und generalisierte lineare Modelle, General linear models, GLM. Da jedoch nicht für alle Tiere alle Daten erhoben werden konnten und es sich um wiederholte Messungen handelte eignete sich die multivariate logistische Regression am besten. Es wurden damit Modelle erstellt für die Zielvariablen Durchfall, Ergebnis der modifizierten ZN-Färbung, Ergebnis des Koproantigen-ELISAs für Cryptosporidien, Cryptosporidien-Ausscheidung, Cryptosporidien-Ausscheidung mit Durchfall und Cryptosporidien-Ausscheidung ohne Durchfall. Aufgrund der riesigen Datenmenge ergab sich trotz vorangehenden statistischen Tests zur Reduzierung der Datenmenge eine grosse Anzahl Variablen, welche mindestens eine Tendenz aufwiesen ( $p \leq 0.20$ ). Aufgrund der kleinen Anzahl untersuchter Tiere und der grossen Informationsmenge pro Tier war die Interaktion der Daten gross. Da pro Betrieb je ein bis sechs Kälber untersucht wurden, ist ausserdem ein Cluster-Effekt bezüglich der Betriebe vorhanden. Aus diesem Grund soll an dieser Stelle nicht auf alle Modelle und Variablen eingegangen werden, sondern lediglich die interessanten Resultate angesprochen werden.

### 6.2.1 Modifizierte Ziehl-Neelsen-Färbung und Koproantigen-ELISA für Cryptosporidien

Die Übereinstimmung der Ergebnisse der beiden Testmethoden betrug beim 2. Besuch 85.7% und beim 3. Besuch 78.3%. Die jeweiligen Spezifitäten, bzw. Sensitivitäten des ELISAs mit der modifizierten ZN-Färbung als Goldstandard lagen bei 90.6%, bzw. 80.7% beim 2. und 90.9%, bzw. 43.8% beim 3. Besuch (Tabellen 13 und 15). Für den 1. Besuch lässt sich keine Aussage machen, da bei nur einem Kalb mittels modifizierter ZN-Färbung Cryptosporidien nachgewiesen werden konnten. Die Übereinstimmung der Resultate ist beim 2. Besuch gut, beim 3. Besuch etwas niedriger. Die Herstellerfirma des ELISA-Testkits gibt für den Nachweis von *Cryptosporidium parvum* mittels ELISA im Vergleich zur Flotationsmethode eine Spezifität von 90.9% und eine Sensitivität von 97.1% an.

### 6.2.2 Halofuginon

Durch die Anwendung von Halofuginon in den ersten Lebenstagen kann die Ausscheidung von Oozysten und das Auftreten von Durchfall reduziert werden (Jarvie et al., 2005; Joachim et al., 2003; Lefay et al., 2001; rezensiert in: Silverlas et al., 2009a). Weder in den univariaten Analysen, noch in den Modellen, hatte Halocur einen signifikanten Einfluss auf die Cryptosporidien-Ausscheidung und den Durchfall. Einzig zum Zeitpunkt des 2. Besuchs war zu beobachten, dass signifikant mehr Kälber welche Halocur erhalten hatten, an Durchfall litten. Dies kann dadurch bedingt sein, dass Halocur metaphylaktisch eingesetzt wurde, wenn schon Probleme auf dem Betrieb vorhanden waren. Der Einsatz wäre die Folge der Durchfall-Problematik. Es wurden 46.2% der Kälber auf Betrieben mit Bestandesproblemen bezüglich Neugeborenen-Durchfalls prophylaktisch mit Halocur behandelt, wohingegen nur 21.1% der Kälber auf Betrieben ohne solche Bestandesprobleme behandelt wurden.

### 6.2.3 Stalltyp und IgG-Gehalt im Kolostrum

Von den 20 Betrieben hielten 9 ihre Tiere in Offenställen (8 Laufställe, 1 Anbindehaltung) und 11 in geschlossenen Stallungen (3 Laufställe, 8 Anbindehaltungen). 27 Kälber kamen aus Offenstallungen und 37 aus geschlossenen. Von den 27 Kälbern aus Offenstallungen wurden 23 in einem Laufstall und 4 in einer Anbindehaltung geboren. Von den 37 aus geschlossenen Stallungen kommenden Kälber stammten 31 aus Anbindehaltung und 6 aus einem Laufstall.

Die Übereinstimmung zwischen Art des Stalls und Haltungsform betrug 84.4% mittels Kappa-Test ( $\kappa=0.68$ ,  $p<0.001$ ). In den meisten Fällen handelte es sich bei den Offenställen um Laufställe und bei den geschlossenen um Anbindehaltung.

Es zeigte sich, dass Kälber in Offenställen ein höheres Risiko hatten, beim 1. Besuch an Durchfall – unabhängig von der Enteropathogen-Ausscheidung – zu leiden. In Norwegen konnte bereits gezeigt werden, dass Laufställe das Risiko für Durchfall bei Kälbern erhöhen können (Gulliksen et al., 2009). Die Erklärung der Autoren war, dass der Kontakt zwischen den Tieren in Laufställen erhöht war. Dies wäre auch eine mögliche Erklärung, weshalb Offenställe das Risiko erhöhten, dass Kühe Cryptosporidien ausgeschieden haben.

Die asymptomatische Cryptosporidien-Ausscheidung zum Zeitpunkt des 2. Besuchs wurde signifikant beeinflusst durch den Stalltyp, dem IgG-Gehalt im Kolostrum und tendenziell durch den Extinktionswert der anti-Cryptosporidien-IgG im Kolostrum. Von den Kälbern, welche beim 2. Besuch Cryptosporidien asymptomatisch ausgeschieden haben, wurden 72.2% in Offenställen und 17.8% in geschlossenen Stallungen gehalten. Die Kälber aus Offenstallungen erhielten durchschnittlich Kolostrum mit einem IgG-Gehalt von 131.1 g/l, Kälber aus geschlossenen Stallungen Kolostrum mit einem Gehalt von durchschnittlich 104.0 g/l. Auch die Extinktion der anti-Cryptosporidien-IgG im Kolostrum war in Offenstallungen tendenziell höher, wobei bedacht werden muss, dass zwischen dem Gesamt-IgG-Gehalt und der Extinktion der anti-Cryptosporidien-IgG einen signifikanten positiven linearen Zusammenhang besteht. Da es sich bei Offenställen in den meisten Fällen um Laufställe handelte, ist davon auszugehen, dass der Kontakt zwischen den Kühen in den Offenställen höher war. Die kontinuierliche Auseinandersetzung mit Cryptosporidien und anderen Enteropathogenen könnte dazu geführt haben, dass das Kolostrum dieser Kühe mehr IgGs enthielt und die Kälber dementsprechend eher gegen den Durchfall (unabhängig von der Genese) beim 2. Besuch geschützt waren. Die scheinbar nicht vorhandene Wirkung des Kolostrums gegen Cryptosporidien-Infektionen wurde in der Literatur bereits beschrieben (Tzipori et al., 1983). Selbst Versuche mit Hyperimmunkolostrum zeigten nur partielle Effekte gegen den Durchfall und die Ausscheidung von Cryptosporidien, wobei die Autoren betonten, dass eine protektive, passiv erworbene Immunität Wirkung von anderen kolostralen Faktoren wie Zellen und Zytokine herkommen könnte (Fayer et al., 1989; Harp et al., 1989; Perryman et al., 1999), diese Mechanismen wurden jedoch bisher nicht gründlich untersucht.

Die Resultate dieser Studie zeigen, dass die Prävalenz von Cryptosporidien-Infektionen bei Kälbern im untersuchten Gebiet im ersten Lebensmonat hoch ist. Es besteht zudem keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Cryptosporidien-Ausscheidung und dem Auftreten von Durchfall, was bedeuten könnte, dass vor allem andere Enteropathogene oder zumindest eine Kombination von Erregern für das Auftreten von infektiös-bedingtem Durchfall verantwortlich sein könnten.

Es konnte gezeigt werden, dass Kälber mit dem Alter häufiger mit Enteropathogenen infiziert sind und die Anzahl Mischinfektionen zunimmt.

Die statistischen Modelle müssen kritisch betrachtet werden. Zur Erstellung solcher Modelle bedarf es einer grösseren Anzahl Tiere als in dieser Studie, damit kein übermässiger Verlust an Freiheitsgraden auftritt, welche die Modelle unlösbar macht.

Für die Nutztierpraxis ergeben sich folgende Schlussfolgerungen: da weder ein Medikament, welches die Ausscheidung des Parasiten vollständig zu unterbinden vermag, noch eine Impfung zur Verfügung steht, hat die Verhinderung der Übertragung der Cryptosporidien und anderen Enteropathogenen durch hygienische und Management-technische Massnahmen oberste Priorität. Dies kann erreicht werden durch Reinigung und Desinfektion der Abkalboxe, sowie der Kälberiglus und -boxen. Für die Desinfektion empfiehlt sich Neopredisan®, da es das einzige, gegen Cryptosporidien wirksame Desinfektionsmittel ist, welches in der Schweiz zugelassen ist (Stand: Oktober 2011). Anschliessend an die Reinigung und Desinfektion sollten die Boxen und Iglus erst wieder eingestreut werden, wenn sie vollständig trocken sind, da Cryptosporidien empfindlich gegen Austrocknung sind (Robertson et al., 1992). Empfehlenswert ist zudem das Entfernen von Holztrennwänden zwischen den Kälberboxen, da diese eine gute Nische für Cryptosporidien-Oozysten und andere Pathogene bieten. Als Alternative ist auch ein streichen mit einer wasserabweisenden, ungiftigen Farbe möglich, um die Porosität der Oberfläche zu reduzieren. Es sollte zudem beachtet werden, dass die Kälberiglus genügend Abstand zueinander haben, um eine Übertragung von Pathogenen zu verhindern.

Betreffend Kälbermanagement im Speziellen können verschiedene Vorkehrungen getroffen werden. Idealerweise ist auf dem Betrieb jeweils eine Person nur für die Kälber zuständig und hat wenig bis gar keinen Kontakt zu älteren und adulten Tieren. Kälber sollten zudem nach Altersgruppen getrennt



gehalten werden, um eine Übertragung von älteren, asymptomatisch ausscheidenden Kälbern auf Neonate zu verhindern. Wichtig ist zudem die Einhaltung der Tränkereihenfolge. Die jüngsten Kälber sollen als erstes getränkt werden, gefolgt von den älteren und zuletzt die kranken. Falls möglich empfiehlt es sich, zumindest einen Tränkenuggi – optimal auch einen Eimer – pro Kalb zu verwenden. Da Cryptosporidien empfindlich gegenüber tiefen Temperaturen sind, können die Nuggis im Tiefkühlschrank, z.B. über Nacht, eingefroren werden um allfällig vorhandene Oozysten abzutöten. Kolostrum scheint zwar keine spezifische Wirkung gegen Cryptosporidien-Infektionen zu haben, lindert aber die Symptomatik und schützt das Kalb gegen andere Pathogene. Eine ausreichende Versorgung mit Kolostrum ist auf jeden Fall anzustreben.

Die durchgeführte Studie zeigt deutlich, dass die immunologischen Vorgänge zwischen Wirt und Parasiten hinsichtlich der Kälber-Cryptosporidiose noch sehr schlecht verstanden werden.

Die gewonnenen Daten liefern Hinweise auf mögliche Ansatzpunkte betreffend weiterführender Studien und Untersuchungen. So könnten die immunologischen Faktoren noch näher betrachtet und charakterisiert, wie z.B. Immunzellen und Zytokine im Kolostrum, und ihren Einfluss auf die Cryptosporidien-Ausscheidung der Kälber untersucht werden.

## 7. Referenzen

- Angus, K.W., 1983, Cryptosporidiosis in man, domestic animals and birds: a review. J R Soc Med 76, 62-70.
- Anonym, 2001, Neopredisan 135-1 Vital AG, [http://www.vetpharm.uzh.ch/perldocs/index\\_t.htm](http://www.vetpharm.uzh.ch/perldocs/index_t.htm)
- Anonym, 2003, Halocur® Veterinaria AG, [http://www.vetpharm.uzh.ch/perldocs/index\\_t.htm](http://www.vetpharm.uzh.ch/perldocs/index_t.htm)
- Appelbee, A.J., Frederick, L.M., Heitman, T.L., Olson, M.E., 2003, Prevalence and genotyping of *Giardia duodenalis* from beef calves in Alberta, Canada. Vet Parasitol 112, 289-294.
- Atwill, E.R., Harp, J.A., Jones, T., Jardon, P.W., Checel, S., Zylstra, M., 1998, Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of *Cryptosporidium parvum* for calfhood infection. Am J Vet Res 59, 1116-1121.
- Atwill, E.R., Hoar, B., das Gracas Cabral Pereira, M., Tate, K.W., Rulofson, F., Nader, G., 2003, Improved quantitative estimates of low environmental loading and sporadic periparturient shedding of *Cryptosporidium parvum* in adult beef cattle. Appl Environ Microbiol 69, 4604-4610.
- Bartels, C.J., Holzhauer, M., Jorritsma, R., Swart, W.A., Lam, T.J., 2010, Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. Prev Vet Med 93, 162-169.
- Bendali, F., Bichet, H., Schelcher, F., Sanaa, M., 1999, Pattern of diarrhoea in newborn beef calves in south-west France. Vet Res 30, 61-74.
- Bjorkman, C., Svensson, C., Christensson, B., de Verdier, K., 2003, *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in calf diarrhoea in Sweden. Acta Vet Scand 44, 145-152.
- Borgsteede, F.H., Tibben, J., Cornelissen, J.B., Agneessens, J., Gaasenbeek, C.P., 2000, Nematode parasites of adult dairy cattle in the Netherlands. Vet Parasitol 89, 287-296.
- Campbell, I., Tzipori, A.S., Hutchison, G., Angus, K.W., 1982, Effect of disinfectants on survival of *cryptosporidium* oocysts. Vet Rec 111, 414-415.
- Castro-Hermida, J.A., Almeida, A., Gonzalez-Warleta, M., Correia da Costa, J.M., Rumbo-Lorenzo, C., Mezo, M., 2007, Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in healthy adult domestic ruminants. Parasitol Res 101, 1443-1448.
- Castro-Hermida, J.A., Gonzalez-Losada, Y.A., Ares-Mazas, E., 2002, Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). Vet Parasitol 106, 1-10.
- Castro-Hermida, J.A., Pors, I., Mendez-Hermida, F., Ares-Mazas, E., Chartier, C., 2006, Evaluation of two commercial disinfectants on the viability and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts. Vet J 171, 340-345.
- Current, W.L., Reese, N.C., 1986, A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in suckling mice. J Protozool 33, 98-108.
- de Graaf, D.C., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L.M., Abbassi, H., Peeters, J.E., 1999, A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. Int J Parasitol 29, 1269-1287.
- de la Fuente, R., Luzon, M., Ruiz-Santa-Quiteria, J.A., Garcia, A., Cid, D., Orden, J.A., Garcia, S., Sanz, R., Gomez-Bautista, M., 1999, *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. Vet Parasitol 80, 179-185.
- Dirksen, G., Gründer, H.D., Stöber, M., 2006, Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. Georg Thieme Verlag.
- Donovan, D.C., Reber, A.J., Gabbard, J.D., Aceves-Avila, M., Galland, K.L., Holbert, K.A., Ely, L.O., Hurley, D.J., 2007, Effect of maternal cells transferred with colostrum on cellular responses to pathogen antigens in neonatal calves. Am J Vet Res 68, 778-782.
- Donovan, G.A., Dohoo, I.R., Montgomery, D.M., Bennett, F.L., 1998, Calf and disease factors affecting growth in female Holstein calves in Florida, USA. Prev Vet Med 33, 1-10.
- Duranti, A., Caccio, S.M., Pozio, E., Di Egidio, A., De Curtis, M., Battisti, A., Scaramozzino, P., 2009, Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in cattle. Zoonoses Public Health 56, 176-182.

- Eckert, J., Friedhoff K.T., Zahner H., Deplazes P., 2008, Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin, Vol 2. Auflage, 1. Auflage Edition. Enke Verlag, 575 p.
- Faber, J.E., Kollmann, D., Heise, A., Bauer, C., Failing, K., Burger, H.J., Zahner, H., 2002, *Eimeria* infections in cows in the periparturient phase and their calves: oocyst excretion and levels of specific serum and colostrum antibodies. *Vet Parasitol* 104, 1-17.
- Faubert, G.M., Litvinsky, Y., 2000, Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. *J Parasitol* 86, 495-500.
- Fayer, R., Andrews, C., Ungar, B.L., Blagburn, B., 1989, Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. *J Parasitol* 75, 393-397.
- Fayer, R., Gasbarre, L., Pasquali, P., Canals, A., Almeria, S., Zarlenga, D., 1998, *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *Int J Parasitol* 28, 49-56.
- Fayer, R., Nerad, T., 1996, Effects of low temperatures on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Appl Environ Microbiol* 62, 1431-1433.
- Fayer, R., Santin, M., Trout, J.M., 2007, Prevalence of *Cryptosporidium* species and genotypes in mature dairy cattle on farms in eastern United States compared with younger cattle from the same locations. *Vet Parasitol* 145, 260-266.
- Fayer, R., Santin, M., Trout, J.M., 2008, *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Vet Parasitol* 156, 191-198.
- Fayer, R., Santin, M., Trout, J.M., Greiner, E., 2006, Prevalence of species and genotypes of *Cryptosporidium* found in 1-2-year-old dairy cattle in the eastern United States. *Vet Parasitol* 135, 105-112.
- Fayer, R., Santin, M., Xiao, L., 2005, *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *J Parasitol* 91, 624-629.
- Gait, R., Soutar, R.H., Hanson, M., Fraser, C., Chalmers, R., 2008, Outbreak of cryptosporidiosis among veterinary students. *Vet Rec* 162, 843-845.
- Graczyk, T.K., Cranfield, M.R., Fayer, R., Bixler, H., 1999, House flies (*Musca domestica*) as transport hosts of *Cryptosporidium parvum*. *Am J Trop Med Hyg* 61, 500-504.
- Graczyk, T.K., Fayer, R., Knight, R., Mhangami-Ruwende, B., Trout, J.M., Da Silva, A.J., Pieniazek, N.J., 2000, Mechanical transport and transmission of *Cryptosporidium parvum* oocysts by wild filth flies. *Am J Trop Med Hyg* 63, 178-183.
- Gulliksen, S.M., Jor, E., Lie, K.I., Hamnes, I.S., Loken, T., Akerstedt, J., Osteras, O., 2009, Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves. *J Dairy Sci* 92, 5057-5066.
- Gulliksen, S.M., Lie, K.I., Solverod, L., Osteras, O., 2008, Risk factors associated with colostrum quality in Norwegian dairy cows. *J Dairy Sci* 91, 704-712.
- Harp, J.A., Goff, J.P., 1995, Protection of calves with a vaccine against *Cryptosporidium parvum*. *J Parasitol* 81, 54-57.
- Harp, J.A., Jardon, P., Atwill, E.R., Zylstra, M., Checels, S., Goff, J.P., De Simone, C., 1996, Field testing of prophylactic measures against *Cryptosporidium parvum* infection in calves in a California dairy herd. *Am J Vet Res* 57, 1586-1588.
- Harp, J.A., Woodmansee, D.B., Moon, H.W., 1989, Effects of colostral antibody on susceptibility of calves to *Cryptosporidium parvum* infection. *Am J Vet Res* 50, 2117-2119.
- Harp, J.A., Woodmansee, D.B., Moon, H.W., 1990, Resistance of calves to *Cryptosporidium parvum*: effects of age and previous exposure. *Infect Immun* 58, 2237-2240.
- Hässig, M., Stadler, T., Lutz, H., 2007, Transition from maternal to endogenous antibodies in newborn calves. *Vet Rec* 160, 234-235.
- Izzo, M.M., Kirkland, P.D., Mohler, V.L., Perkins, N.R., Gunn, A.A., House, J.K., 2011, Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Aust Vet J* 89, 167-173.
- Jarvie, B.D., Trotz-Williams, L.A., McKnight, D.R., Leslie, K.E., Wallace, M.M., Todd, C.G., Sharpe, P.H., Peregrine, A.S., 2005, Effect of halofuginone lactate on the occurrence of *Cryptosporidium parvum* and growth of neonatal dairy calves. *J Dairy Sci* 88, 1801-1806.
- Jenkins, M.B., Bowman, D.D., Fogarty, E.A., Ghiorse, W.C., 2002, *Cryptosporidium parvum* oocyst inactivation in three soil types at various temperatures and water potentials. *Soil biology and Biochemistry* 34, 1101-1109.

- Joachim, A., Krull, T., Schwarzkopf, J., Dauschies, A., 2003, Prevalence and control of bovine cryptosporidiosis in German dairy herds. *Vet Parasitol* 112, 277-288.
- Johnson, J.K., Schmidt, J., Gelberg, H.B., Kuhlenschmidt, M.S., 2004, Microbial adhesion of *Cryptosporidium parvum* sporozoites: purification of an inhibitory lipid from bovine mucosa. *J Parasitol* 90, 980-990.
- Kato, S., Jenkins, M., Fogarty, E., Bowman, D., 2004, *Cryptosporidium parvum* oocyst inactivation in field soil and its relation to soil characteristics: analyses using the geographic information systems. *Sci Total Environ* 321, 47-58.
- Kato, S., Jenkins, M.B., Fogarty, E.A., Bowman, D.D., 2002, Effects of freeze-thaw events on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts in soil. *J Parasitol* 88, 718-722.
- Klein, P., Kleinova, T., Volek, Z., Simunek, J., 2008, Effect of *Cryptosporidium parvum* infection on the absorptive capacity and paracellular permeability of the small intestine in neonatal calves. *Vet Parasitol* 152, 53-59.
- Korich, D.G., Mead, J.R., Madore, M.S., Sinclair, N.A., Sterling, C.R., 1990, Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. *Appl Environ Microbiol* 56, 1423-1428.
- Lefay, D., Naciri, M., Poirier, P., Chermette, R., 2001, Efficacy of halofuginone lactate in the prevention of cryptosporidiosis in suckling calves. *Vet Rec* 148, 108-112.
- Lentze, T., Hofer, D., Gottstein, B., Gaillard, C., Busato, A., 1999, [Prevalence and importance of endoparasites in calves raised in Swiss cow-calf farms]. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 106, 275-281.
- Lindsay, D.S., Upton, S.J., Owens, D.S., Morgan, U.M., Mead, J.R., Blagburn, B.L., 2000, *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle, *Bos taurus*. *J Eukaryot Microbiol* 47, 91-95.
- Lopez, J.W., Allen, S.D., Mitchell, J., Quinn, M., 1988, Rotavirus and *Cryptosporidium* shedding in dairy calf feces and its relationship to colostrum immune transfer. *J Dairy Sci* 71, 1288-1294.
- Lorenzo Lorenzo, M.J., Ares-Mazas, E., Villacorta Martinez de Maturana, I., 1993, Detection of oocysts and IgG antibodies to *Cryptosporidium parvum* in asymptomatic adult cattle. *Vet Parasitol* 47, 9-15.
- Luginbühl, A., Reitt, K., Metzler, A., Kollbrunner, M., Corboz, L., Deplazes, P., 2005, [Field study of the prevalence and diagnosis of diarrhea-causing agents in the newborn calf in a Swiss veterinary practice area]. *Schweiz Arch Tierheilkd* 147, 245-252.
- Maddox-Hyttel, C., Langkjaer, R.B., Enemark, H.L., Vigre, H., 2006, *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs--occurrence and management associated risk factors. *Vet Parasitol* 141, 48-59.
- Meireles, M.V., de Oliveira, F.P., Teixeira, W.F., Coelho, W.M., Mendes, L.C., 2011, Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in dairy calves from the state of Sao Paulo, Brazil. *Parasitology research* 109, 949-951.
- Mohammed, H.O., Wade, S.E., Schaaf, S., 1999, Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Vet Parasitol* 83, 1-13.
- Morin, D.E., McCoy, G.C., Hurley, W.L., 1997, Effects of quality, quantity, and timing of colostrum feeding and addition of a dried colostrum supplement on immunoglobulin G1 absorption in Holstein bull calves. *J Dairy Sci* 80, 747-753.
- Müller, L.D., Ellinger, D.K., 1981, Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. *J Dairy Sci* 64, 1727-1730.
- O'Handley, R.M., Olson, M.E., Fraser, D., Adams, P., Thompson, R.C., 2000, Prevalence and genotypic characterisation of *Giardia* in dairy calves from Western Australia and Western Canada. *Vet Parasitol* 90, 193-200.
- Panciera, R.J., 1971, Cryptosporidial Infection in a Calf. *Vet Path*, 479-484.
- Perryman, L.E., Kapil, S.J., Jones, M.L., Hunt, E.L., 1999, Protection of calves against cryptosporidiosis with immune bovine colostrum induced by a *Cryptosporidium parvum* recombinant protein. *Vaccine* 17, 2142-2149.
- Pritchett, L.C., Gay, C.C., Besser, T.E., Hancock, D.D., 1991, Management and production factors influencing immunoglobulin G1 concentration in colostrum from Holstein cows. *J Dairy Sci* 74, 2336-2341.

- Quilez, J., Sanchez-Acedo, C., del Cacho, E., Clavel, A., Causape, A.C., 1996, Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle in Aragon (northeastern Spain). *Vet Parasitol* 66, 139-146.
- Riedel-Caspari, G., 1993, The influence of colostral leukocytes on the course of an experimental *Escherichia coli* infection and serum antibodies in neonatal calves. *Vet Immunol Immunopathol* 35, 275-288.
- Robertson, L.J., Campbell, A.T., Smith, H.V., 1992, Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. *Appl Environ Microbiol* 58, 3494-3500.
- Rosenberger, G., Dirksen, G., Gründer, H.D., Stöber, M., 1990, Die klinische Untersuchung des Rindes, Vol 3. Auflage. Verlag Paul Parey.
- Santin, M., Trout, J.M., Fayer, R., 2008, A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. *Vet Parasitol* 155, 15-23.
- Santin, M., Trout, J.M., Xiao, L., Zhou, L., Greiner, E., Fayer, R., 2004, Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Vet Parasitol* 122, 103-117.
- Schmidt, J., Kuhlenschmidt, M.S., 2008, Microbial adhesion of *Cryptosporidium parvum*: identification of a colostrum-derived inhibitory lipid. *Mol Biochem Parasitol* 162, 32-39.
- Scott, C.A., Smith, H.V., Mtambo, M.M., Gibbs, H.A., 1995, An epidemiological study of *Cryptosporidium parvum* in two herds of adult beef cattle. *Vet Parasitol* 57, 277-288.
- Silverlas, C., Bjorkman, C., Egenvall, A., 2009a, Systematic review and meta-analyses of the effects of halofuginone against calf cryptosporidiosis. *Prev Vet Med* 91, 73-84.
- Silverlas, C., de Verdier, K., Emanuelson, U., Mattsson, J.G., Bjorkman, C., 2010a, *Cryptosporidium* infection in herds with and without calf diarrhoeal problems. *Parasitol Res* 107, 1435-1444.
- Silverlas, C., Emanuelson, U., de Verdier, K., Bjorkman, C., 2009b, Prevalence and associated management factors of *Cryptosporidium* shedding in 50 Swedish dairy herds. *Prev Vet Med* 90, 242-253.
- Silverlas, C., Naslund, K., Bjorkman, C., Mattsson, J.G., 2010b, Molecular characterisation of *Cryptosporidium* isolates from Swedish dairy cattle in relation to age, diarrhoea and region. *Vet Parasitol* 169, 289-295.
- Slapeta, J., 2011, Naming of *Cryptosporidium pestis* is in accordance with the ICZN Code and the name is available for this taxon previously recognized as *C. parvum* 'bovine genotype'. *Veterinary parasitology* 177, 1-5.
- Snodgrass, D.R., Terzolo, H.R., Sherwood, D., Campbell, I., Menzies, J.D., Synge, B.A., 1986, Aetiology of diarrhoea in young calves. *Vet Rec* 119, 31-34.
- Stott, G.H., Fellah, A., 1983, Colostral immunoglobulin absorption linearly related to concentration for calves. *J Dairy Sci* 66, 1319-1328.
- Trotz-Williams, L.A., Jarvie, B.D., Martin, S.W., Leslie, K.E., Peregrine, A.S., 2005, Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. *Can Vet J* 176, 349-351.
- Trotz-Williams, L.A., Martin, D.S., Gatei, W., Cama, V., Peregrine, A.S., Martin, S.W., Nydam, D.V., Jamieson, F., Xiao, L., 2006, Genotype and subtype analyses of *Cryptosporidium* isolates from dairy calves and humans in Ontario. *Parasitol Res* 99, 346-352.
- Trotz-Williams, L.A., Wayne Martin, S., Leslie, K.E., Duffield, T., Nydam, D.V., Peregrine, A.S., 2007, Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Prev Vet Med* 82, 12-28.
- Tyzzer, E.E., 1910, An extracellular Coccidium, *Cryptosporidium Muris* (Gen. Et Sp. Nov.), of the gastric Glands of the Common Mouse. *J Med Res* 23, 487-510 483.
- Tzipori, S., 1983, Cryptosporidiosis in animals and humans. *Microbiol Rev* 47, 84-96.
- Tzipori, S., Smith, M., Halpin, C., Angus, K.W., Sherwood, D., Campbell, I., 1983, Experimental cryptosporidiosis in calves: clinical manifestations and pathological findings. *Vet Rec* 112, 116-120.
- Uhde, F.L., Kaufmann, T., Sager, H., Albin, S., Zanoni, R., Schelling, E., Meylan, M., 2008, Prevalence of four enteropathogens in the faeces of young diarrhoeic dairy calves in Switzerland. *Vet Rec* 163, 362-366.

- Wade, S.E., Mohammed, H.O., Schaaf, S.L., 2000, Prevalence of *Giardia sp.*, *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium andersoni* (syn. *C. muris*) [correction of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium muris* (*C. andersoni*)] in 109 dairy herds in five counties of southeastern New York. *Vet Parasitol* 93, 1-11.
- Weir, S.C., Pokorny, N.J., Carreno, R.A., Trevors, J.T., Lee, H., 2002, Efficacy of common laboratory disinfectants on the infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cell culture. *Appl Environ Microbiol* 68, 2576-2579.
- Whitmire, W.M., Harp, J.A., 1991, Characterization of bovine cellular and serum antibody responses during infection by *Cryptosporidium parvum*. *Infect Immun* 59, 990-995.
- Wyatt, C.R., Barrett, W.J., Brackett, E.J., Schaefer, D.A., Riggs, M.W., 2002, Association of IL-10 expression by mucosal lymphocytes with increased expression of *Cryptosporidium parvum* epitopes in infected epithelium. *J Parasitol* 88, 281-286.
- Wyatt, C.R., Brackett, E.J., Perryman, L.E., Rice-Ficht, A.C., Brown, W.C., O'Rourke, K.I., 1997, Activation of intestinal intraepithelial T lymphocytes in calves infected with *Cryptosporidium parvum*. *Infect Immun* 65, 185-190.
- Wyatt, C.R., Brackett, E.J., Savidge, J., 2001, Evidence for the emergence of a type-1-like immune response in intestinal mucosa of calves recovering from cryptosporidiosis. *J Parasitol* 87, 90-95.
- Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U., Upton, S.J., 2004, *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev* 17, 72-97.

## **8. Danksagung**

Allen voran danke ich Prof. Dr. med. vet. Michael Hässig und Dr. rer. nat. Christoph Lippuner für das Dissertationsthema und ihre kompetente und freundliche Unterstützung und Betreuung. Für das Durchlesen des Manuskripts danke ich Prof. Dr. med. vet. Peter Deplazes.

Weiter möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Ambulanz des Tierspitals Zürich, sowie des Instituts für Parasitologie bedanken, die mich während der Feld- und Laborarbeit unterstützt haben.

Ein ganz spezieller Dank geht an alle Bauern, welche sich bereit erklärten an meiner Studie teilzunehmen und mich stets freundlich und geduldig empfangen haben.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei allen Menschen bedanken, welche mir während dieser lehrreichen, schönen und auch anstrengenden Zeit zur Seite gestanden haben.

## 9. Lebenslauf

**Name, Vorname:** Weber Sarah Emilie

**Geburtsdatum:** 28. Dezember 1984

**Nationalität:** Schweizerin

**Heimatort:** Zürich (ZH)

August 1991 – Juni 1996	Primarschule, Gelterkinden, Schweiz
August 1996 – Juni 2000	Progymnasium, Gelterkinden, Schweiz
August 2000 – Dezember 2003	Gymnasium, Liestal, Schweiz
Oktober 2004 – Oktober 2009	Studium Veterinärmedizin, Universität Zürich, Zürich, Schweiz
15. Oktober 2009	Abschluss Veterinärmedizin, Universität Zürich, Zürich, Schweiz
November 2009 – November 2011	Anfertigung der Dissertation unter Leitung von Prof. Dr. med. vet. Michael Hässig und Dr. rer. nat. Christoph Lippuner am Departement für Nutztiere, Abteilung Ambulanz und Bestandesmedizin, Vetsuisse-Fakultät Zürich; Direktor: Prof. Dr. med. vet. Dr. h.c. Ueli Braun
November 2009 – November 2011	Doktorandin in der Abteilung Ambulanz und Bestandesmedizin des Departements für Nutztiere der Vetsuisse-Fakultät Zürich, Zürich, Schweiz
November 2011 – Juli 2014	Supervisorin / Assistentin Personal in der Corris AG, Zürich, Schweiz
Seit Juli 2014	Projektmitarbeiterin im Laboratory Animal Services Center (LASC), Universität Zürich, Zürich, Schweiz



## 10. Anhang

### 10.1 Fragebogen

Betriebsnummer:  
Bestandesmedizin:

Datum 1. Besuch: .....  
Datum 2. Besuch: .....  
Datum 3. Besuch: .....  
Datum 4. Besuch: .....

#### BETRIEB

Name/Vorname:

.....

Strasse/Hnr.: .....

PLZ/Ort: .....

Telefonnummer:

.....

E-Mail: .....

Koordinaten: .....

#### BETRIEB ALLGEMEIN

☐ Ambulanz

☐ Bestandestierarzt:

Name/Vorname: .....

Adresse: .....

Tel.-Nr.: .....

## Daten Betrieb

### Betriebstyp:

- ☐ Milch
- ☐ Mast
- ☐ Mutterkuhhaltung
- ☐ Ammenkuhhaltung
- ☐ andere: .....

### Produktionstyp:

- ☐ Konventionell
- ☐ IP
- ☐ Biobetrieb
- ☐ Labels : .....
- ☐ anderer: .....

### Viehhaltung ist Haupterwerb:

- ☐ ja
- ☐ nein: Anteil: .....

### Stall:

- Typ : ☐ Anbindehaltung ☐ Laufstall  
☐ Offenstall ☐ geschlossen

Anzahl Räume für Viehhaltung insgesamt: .....

- Klima : Temperatur: .....  
Heizung: ☐ ja ☐ nein  
Lüftung: ☐ ja ☐ nein  
Luftfeuchtigkeit: ☐ niedrig ☐ mittel ☐ hoch

Wasseranschluss: ☐ Gemeinde ☐ Privat: kontrolliert? ☐ ja ☐ nein

Anzahl im Stall arbeitende Personen: .....

### Haltung:

Betriebsfläche: .....

Weidegang: ☐ ja: ☐ Sommer ☐ Winter ☐ ganzjährig  
☐ RAUS ☐ BT ☐ IP  
☐ anderes: .....

☐ nein

Alpung: ☐ ja ☐ nein

Fütterung: ☐ betriebseigen ☐ gekauft ☐ beides  
☐ Silage ☐ Kraftfutter ☐ weiteres: .....

Düngung: .....

**Tiere:**

Rasse(n): .....

Anzahl Tiere insgesamt : .....

Tierverkehr: Rein/Raus: ☐ ja ☐ nein

Zukauf Tiere: ☐ ja: Quarantäne: ☐ ja ☐ nein  
Anzahl: ...../Jahr

Durchschnittliche Milchleistung (bei Milchbetrieb): ...../Jahr

IBR: ..... BVD: ..... BT: ..... Chlamydien: .....  
Leptospiren: ..... Neospora: .....  
Coxiellen: ..... Rinder Grippe: .....  
weitere: .....

Momentan gesperrt: ☐ ja: Grund: ..... Dauer: .....  
☐ nein

Entwurmungen: ☐ ja: Wirkstoff/Dosis/Zeitpunkt: .....  
☐ nein Altersgruppe(n): .....

Bestandesprobleme: ☐ ja: .....  
☐ nein

seit: ..... Auftreten: ☐ Sommer  
☐ Winter  
☐ durchgehend

Vorhergehende Untersuchungen: ☐ ja: Datum: .....  
☐ Bakt.: .....  
☐ Parasito: .....  
☐ Viro: .....  
☐ Patho: .....  
☐ andere: .....  
☐ nein

Andere Tiere: ☐ Schweine ☐ Schafe/Ziegen ☐ Pferde/Esel  
☐ Geflügel ☐ Hunde ☐ Katzen  
☐ andere ☐ keine

Kontakt mit Rinder: ☐ ja: Welche: .....  
☐ nein

Momentan erkrankt: ☐ ja: Welche/Erkrankung: .....  
☐ nein

**Geografische Lage Betrieb:**

Katasterzonen (BLW): ☐ Talzone ☐ Hügelzone ☐ Bergzone 1  
☐ Bergzone 2 ☐ Bergzone 3 ☐ Bergzone 4  
☐ Sömmerungsgebiet

Umweltfaktoren: ☐ Feuchtgebiet ☐ Industrie ☐ Agglomeration  
☐ anderes: .....

# TIERE

## ADULTE TIERE

### Daten allgemein

Anzahl adulte Tiere: .....

Durchschnittliches Alter der Adulten Tiere: .....

Aufzuchtvertrag: ☐ ja: Anzahl Tiere: ..... ☐ nein

### Trächtigkeiten/Geburt:

Anzahl trächtiger Tiere (Zeitpunkt 1. Besuch): .....

Getrennte Abkalbeboxe: ☐ ja: Bodentyp:

- ☐ Beton
- ☐ Spaltenboden
- ☐ beides (Anteil %): .....

Einstreu: ☐ keine  
☐ Stroh  
☐ Sägemehl  
☐ Häcksel  
☐ anderes: .....

Entmistung: ☐ manuell  
☐ mechanisch  
Wie oft: .....

Reinigung vor Einstellung mit:  
☐ Wasser  
☐ Desinfektionsmittel  
Präparat: .....  
☐ andere: .....

☐ nein

### Haltung:

Bodentyp: ☐ Beton ☐ Spaltenboden ☐ beides (Anteil %): .....

Einstreu: ☐ keine ☐ Stroh ☐ Kunststoffmatten  
☐ Sägemehl ☐ anderes: .....

Entmistung: ☐ manuell ☐ mechanisch Wie oft: .....

**Daten Muttertier**

Name: .....

TVD-Nr.: .....

Alter: .....

BCS: .....

Ø Milchleistung: ...../Jahr

In Bestand seit: .....

**Trächtigkeit/Geburt:**

Wievielte Geburt: .....

Verlauf: ☐ ohne Probleme ☐ Probleme: .....Zyklus: ☐ regelmässig ☐ stille Brunst ☐ verlängerte Güstzeit☐ Ovarzysten☐ anderes: .....Aborte: ☐ ja: Zeitpunkt: ..... Untersuchungsergebnis: .....☐ neinEuter: ☐ o.b.B.☐ erhöhte Zellzahlen☐ Mastitis☐ andere: .....

Behandlungen: ..... Zeitpunkt: .....

Wie lange Trockengestellt: .....

Mutterschutzvakzine: ☐ ja: Zeitpunkt: ..... Welche: .....☐ neinPräv. Massnahmen: ☐ Calciumboli: .....☐ Vit. D<sub>3</sub>: .....☐ Phosphorboli: .....☐ andere: .....☐ neinErkrankungen: ☐ ja: ..... Zeitpunkt: .....

Behandlung: .....

☐ nein

CMT: Tag 3: .....

Tag 10: .....

Tag 30: .....

## KÄLBER

### Kälber allgemein

Anzahl Kälber insgesamt: .....  
.....

Anzahl Kälber < 10 Wochen:

Anzahl Kälber pro Jahr: .....  
.....

Verteilung auf Jahresverlauf:

Anzahl Todesfälle bis Absetzen: .....  
.....

Untersuchungen/Ergebnis:

Anzahl zw. Absetzen/6 Monate: .....  
Untersuchungen/Ergebnis:.....

### Fütterung:

Kolostrum: Lagerung Kolostrum: .....

Kolostrumbank vorhanden: ☐ ja: Lagerung: .....  
Zubereitung: .....  
☐ nein

DF-Kälber: Wird weiter Milch gefüttert: ☐ ja: Wieviel: .....  
Wie oft: ...../Tag  
☐ nein: Was: .....  
Wieviel: .....  
Wie oft: ...../Tag

Zwischentränken: ☐ ja: Wieviel: .....  
Wie oft: ...../Tag  
☐ nein

### Prophylaxe in der Gruppe:

Verabreichung von:

☐ Ig-Produkte: ..... Dosierung: .....  
Wie oft: ..... ☐ TA ☐ Besitzer

☐ Impfungen: ..... Dosierung: .....  
Wann: ..... ☐ TA ☐ Besitzer

☐ Halocur ..... Dosierung: .....  
Wie oft: ..... ☐ TA ☐ Besitzer

☐ andere: ..... Dosierung: .....  
Wie oft: ..... ☐ TA ☐ Besitzer

☐ keine

**Kalb speziell**

Name: .....

**Tier:**TVD-Nr.: ..... Alter: ..... Geschlecht: ☐ w ☐ m

KGW: ..... oder: Bandmass: .....

**Haltung:**

Iglus: Anzahl Iglus: ..... Anzahl Kälber pro Iglu: .....

Standort: ☐ im Stall ☐ draussenKontakt zwischen Iglus: ☐ ja ☐ neinKontakt mit Kühen: ☐ ja ☐ nein

Boxen: Anzahl Boxen: ..... Anzahl Kälber pro Boxe: .....

Standort: ☐ getrennter Raum ☐ gleicher Raum wie KüheKontakt zwischen Boxen: ☐ ja ☐ neinKontakt mit Kühen: ☐ ja ☐ nein

Andere Aufstallungssysteme: .....

Falls Gruppen: ☐ fix ☐ ständig Neuzugänge/Abgänge**Fütterung:**

Kolostrum: Erstgabe: Wie viel: ..... Zeitraum nach Geburt: .....

Herkunft: ☐ Mutter ☐ Andere Kuh ☐ PoolSauglust: ☐ gut ☐ reduziert ☐ aufgehoben**Geburt:**Anzahl Kälber: ☐ Einling ☐ ZwillingeLage Kalb: ☐ VEL ☐ HEL ☐ andere: .....Geburtshilfe: ☐ ja: ☐ TA ☐ Besitzer Art der GH: .....Schwerg Geburt: ☐ ja ☐ nein☐ nein (Spontangeburt) Dauer der Geburt: .....

Zeitpunkt Trennung Kalb – Kuh: .....

Ort Abkalbung: ☐ Abkalbebox ☐ Laufstall ☐ Weide ☐ andere: .....**Behandlungen Kalb p.n.:**☐ ja: Grund: .....

Präparat: ..... Dosierung: .....

Durchgeführt von: ☐ TA ☐ Besitzer☐ nein

**Klinische Untersuchung Kalb:**AZ: ☐ gut ☐ lgr. ☐ mgr. ☐ hgr. gestört

Körpertemperatur: ..... °C

HF: ..... AF: ..... LA: .....

SH: ☐ rosa ☐ blass ☐ weiss ☐ gelb  
☐ rot ☐ blau  
☐ feucht ☐ klebrig ☐ trockenKFZ: ☐ < 2s ☐ 3-4s ☐ > 4sHT: ☐ erhalten ☐ lgr. ☐ mgr. ☐ hgr. reduziertBulbi: ☐ o.b.B. ☐ lgr. ☐ mgr. ☐ hgr. eingesunkenDehydratation: ☐ ja: ☐ leicht ☐ mittel ☐ schwer  
☐ nein

Nabel: ..... (kurz p.n.)

Besonderes: .....

Kot: ☐ dickbreiig ☐ mittelbreiig ☐ dünnbreiig ☐ suppig  
☐ wässrigBeimengungen: ☐ ja: ☐ Blut ☐ SH-Fetzen  
☐ Fibrin ☐ Schleim  
☐ nein

Farbe: .....

---



# 1. Kontrollbesuch

## Kalb

### Tier:

TVD-Nr.: ..... Alter: .....  
KGW: ..... oder: ..... Bandmass: .....

### Haltung:

Wie gehalten: .....  
(Details siehe 1. Besuch)

### Fütterung:

Kolostrum: Zweitgabe: ..... Wie viel: ..... Zeitraum nach Geburt: .....

Milch: Menge pro Mahlzeit: ..... Wie oft/Tag: .....

Verabreichung: ☐ Flasche ☐ Eimer ☐ Eimer + Nuggi  
☐ Automat

Verdünnung: ☐ ja ☐ nein

Milchersatz: ☐ ja: Präparat: ..... Zubereitung: .....  
☐ nein

Sauglust: ☐ gut ☐ reduziert ☐ aufgehoben

Ergänzungsfuttermittel: ☐ ja: .....  
☐ nein

Wasser: ☐ Automat ☐ Eimer  
☐ ad libitum ☐ werden getränkt: ..... L/Tag  
☐ nein

Heu: ☐ ja: seit: ..... ☐ am Boden ☐ Raufe  
☐ andere: .....  
☐ nein

Wurde Kalb zwangsgetränkt: ☐ ja: ☐ mit Sonde: Was: .....  
Wieviel: .....  
Wie oft: ...../Tag  
☐ andere: Was: .....  
Wieviel: .....  
Wie oft: ...../Tag  
☐ nein

### Behandlungen:

☐ ja: Grund: .....  
Präparat: ..... Dosierung: .....  
Durchgeführt von: ☐ TA ☐ Besitzer  
☐ nein

Enthornung: ☐ ja: Datum: ..... ☐ TA ☐ Besitzer

**Klinische Untersuchung Kalb:**

AZ: ☐ gut ☐ lgr. ☐ mgr. ☐ hgr. gestört

Körpertemperatur: ..... °C

HF: ..... AF: ..... LA: .....

SH: ☐ rosa ☐ blass ☐ weiss ☐ gelb  
☐ rot ☐ blau  
☐ feucht ☐ klebrig ☐ trocken

KFZ: ☐ < 2s ☐ 3-4s ☐ > 4s

HT: ☐ erhalten ☐ lgr. ☐ mgr. ☐ hgr. reduziert

Bulbi: ☐ o.b.B. ☐ lgr. ☐ mgr. ☐ hgr. eingesunken

Dehydratation: ☐ ja: ☐ leicht ☐ mittel ☐ schwer  
☐ nein

Nabel: ..... (kurz p.n.)

Besonderes: .....

Kot: ☐ dickbreiig ☐ mittelbreiig ☐ dünnbreiig ☐ suppig  
☐ wässrig

Beimengungen: ☐ ja: ☐ Blut ☐ SH-Fetzen  
☐ Fibrin ☐ Schleim  
☐ nein

Farbe: .....

---

---

## 2. Kontrollbesuch

### Kalb

#### Tier:

TVD-Nr.: ..... Alter: .....  
KGW: ..... oder: ..... Bandmass: .....

#### Haltung:

Art: ☐ wie 1. Kontrollbesuch: falls Gruppe: ☐ fix ☐ Neuzugänge  
☐ Änderungen: .....

#### Fütterung:

Milch: Menge pro Mahlzeit: ..... Wie oft/Tag: .....

Verabreichung: ☐ Flasche ☐ Eimer ☐ Eimer + Nuggi ☐ Automat

Verdünnt: ☐ ja ☐ nein

Milchersatz: ☐ ja: Präparat: ..... Zubereitung: .....  
☐ nein

Sauglust: ☐ gut ☐ reduziert ☐ aufgehoben

Ergänzungsfuttermittel: ☐ ja: .....  
☐ nein

Wasser: ☐ Automat ☐ Eimer ☐ ad libitum ☐ werden getränkt: .....L/Tag

Heu: ☐ ja: seit: ..... ☐ am Boden ☐ Raufe  
☐ andere: .....

Wurde Kalb zwangsgetränkt: ☐ ja: ☐ mit Sonde: Was: .....  
Wieviel: .....  
Wie oft: ...../Tag  
☐ andere: Was: .....  
Wieviel: .....  
Wie oft: ...../Tag  
☐ nein

#### Behandlungen:

☐ ja: Grund: .....  
Präparat: ..... Dosierung: .....  
Durchgeführt von: ☐ TA ☐ Besitzer

☐ nein

Enthornung: ☐ ja: Datum: ..... ☐ TA ☐ Besitzer

**Klinische Untersuchung Kalb:**AZ: ☐ gut ☐ lgr. ☐ mgr. ☐ hgr. gestört

Körpertemperatur: ..... °C

HF: ..... AF: ..... LA: .....

SH: ☐ rosa ☐ blass ☐ weiss ☐ gelb  
☐ rot ☐ blau  
☐ feucht ☐ klebrig ☐ trockenKFZ: ☐ < 2s ☐ 3-4s ☐ > 4sHT: ☐ erhalten ☐ lgr. ☐ mgr. ☐ hgr. reduziertBulbi: ☐ o.b.B. ☐ lgr. ☐ mgr. ☐ hgr. eingesunkenDehydratation: ☐ ja: ☐ leicht ☐ mittel ☐ schwer  
☐ nein

Nabel: ..... (kurz p.n.)

Besonderes: .....

Kot: ☐ dickbreiig ☐ mittelbreiig ☐ dünnbreiig ☐ suppig  
☐ wässrigBeimengungen: ☐ ja: ☐ Blut ☐ SH-Fetzen  
☐ Fibrin ☐ Schleim  
☐ nein

Farbe: .....

Besonderes: .....

---

---

### 3. Kontrollbesuch

#### Kalb

##### Tier:

TVD-Nr.: ..... Alter: .....  
KGW: ..... oder: ..... Bandmass: .....

##### Haltung:

Art: ☐ wie 2. Kontrollbesuch: falls Gruppe: ☐ fix ☐ Neuzugänge  
☐ Änderungen: .....

##### Fütterung:

Milch: Menge pro Mahlzeit: ..... Wie oft/Tag: .....

Verabreichung: ☐ Flasche ☐ Eimer ☐ Eimer + Nuggi ☐ Automat

Verdünnt: ☐ ja ☐ nein

Milchersatz: ☐ ja: Präparat: ..... Zubereitung: .....  
☐ nein

Sauglust: ☐ gut ☐ reduziert ☐ aufgehoben

Ergänzungsfuttermittel: ☐ ja: .....  
☐ nein

Wasser: ☐ Automat ☐ Eimer ☐ ad libitum ☐ werden getränkt: .....L/Tag

Heu: ☐ ja: seit: ..... ☐ am Boden ☐ Raufe  
☐ andere: .....

Wurde Kalb zwangsgetränkt: ☐ ja: ☐ mit Sonde: Was: .....  
Wieviel: .....  
Wie oft: ...../Tag  
☐ andere: Was: .....  
Wieviel: .....  
Wie oft: ...../Tag  
☐ nein

##### Behandlungen:

☐ ja: Grund: .....  
Präparat: ..... Dosierung: .....  
Durchgeführt von: ☐ TA ☐ Besitzer  
☐ nein

Enthornung: ☐ ja: Datum: ..... ☐ TA ☐ Besitzer

##### Klinische Untersuchung Kalb:

AZ: ☐ gut ☐ lgr. ☐ mgr. ☐ hgr. gestört

Körpertemperatur: ..... °C

HF: ..... AF: ..... LA: .....

SH: ☐ rosa ☐ blass ☐ weiss ☐ gelb  
☐ rot ☐ blau  
☐ feucht ☐ klebrig ☐ trocken

KFZ: ☐ < 2s ☐ 3-4s ☐ > 4s

HT: ☐ erhalten ☐ lgr. ☐ mgr. ☐ hgr. reduziert

Bulbi: ☐ o.b.B. ☐ lgr. ☐ mgr. ☐ hgr. eingesunken

Dehydratation: ☐ ja: ☐ leicht ☐ mittel ☐ schwer  
☐ nein

Nabel: ..... (kurz p.n.)

Besonderes: .....

Kot: ☐ dickbreiig ☐ mittelbreiig ☐ dünnbreiig ☐ suppig  
☐ wässrig

Beimengungen: ☐ ja: ☐ Blut ☐ SH-Fetzen  
☐ Fibrin ☐ Schleim  
☐ nein

Farbe: .....

Besonderes: .....

---

#### Todesfall Kalb:

☐ Gestorben ☐ Euthanasie: Grund: .....  
Datum: .....

Untersuchungen/Ergebnisse: .....  
.....  
.....

## 10.2 Lösungen

### Anti-Cryptosporidien-IgG-ELISA

#### PBS

Für 1 Liter 5-fach konzentrierte Stocklösung:

NaCl	40.0 g
KCl	1.0 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	5.8 g
KHPO <sub>4</sub>	1.0 g
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.5 g

#### Puffer I

8.4 g NaHCO<sub>3</sub> (0.1 M, pH 8.3) mit 10.6 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.1 M, pH 11.0) auf pH 9.6 einstellen.

NaN <sub>3</sub>	0.02%
------------------	-------

#### Puffer II

PBS 1-fach	1.0 l
Tween 20	3.0 ml
Hämoglobin aus bovinem Blut (Fluka, 51290)	500.0 mg
NaN <sub>3</sub>	200.0 mg

#### Puffer III

0.1 M NaHCO<sub>3</sub> (8.4 g/l; pH 8.3) + 0.1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10.6 g/l; pH 11.0) bis pH 9.8 und Volumen 500 ml

1 M MgCl <sub>2</sub>	1.0 ml
Ad Aqua dest.	1.0 l

#### Waschlösung

NaCl (0.9%)	45.0 g
Tween 20 (0.3%)	15.0 ml
Ad MilliQ-Wasser	5.0 l

#### SAFC-Methode

SAF-Lösung:

Natriumacetat	15.0 g
Konzentrierte Essigsäure	20.0 ml
Formaldehyd (37%)	40.0 ml
Ad Aqua dest.	1.0 l

### Aufreinigung von Leukozyten aus dem Blut und Kolostrum

#### PBS

Für 1 Liter 10-fach konzentrierte Lösung

KCl	2.0 g
NaCl	80.0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.4 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O oder Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2 H <sub>2</sub> O	21.7 g oder 14.39 g
Ad Aqua dest.	1.0 l

Nach dem verdünnen auf 1-fach sollte der pH ca. 7.4 betragen.

**Erythrozyten-Lysis-Puffer**NH<sub>4</sub>Cl (155 mM)

4.15 g

KHCO<sub>3</sub> (10 mM)

0.5 g

EDTA (100 µM)

18.6 mg (entspricht 100 µl 0.5 M EDTA)

Ad MilliQ-Wasser

500 ml

Einstellen auf pH 7.3 und sterilfiltrieren.